

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LA PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE

par P. MAZÉ

(Avec la Pl. VII)

PREMIER MÉMOIRE

NUTRITION MINÉRALE DES VÉGÉTAUX.

ABSORPTION ET EXCRÉTION DES ÉLÉMENTS MINÉRAUX PAR LES RACINES ET PAR LES FEUILLES

EXCRÉTION DES SUBSTANCES ORGANIQUES

I

Introduction.

L'expérience prouve que le meilleur moyen d'obtenir de bonnes récoltes, dans les conditions économiques les plus avantageuses, est de faire un usage judicieux des engrais. Pour cela il faut connaître les exigences des cultures et la physiologie de la nutrition végétale.

Liebig et quelques rares devanciers ont fait faire un grand progrès à l'agriculture en montrant que les végétaux tirent leurs aliments des composés minéraux du sol et de l'atmosphère. D'après Liebig les engrais ne valent que par les quantités d'éléments minéraux nutritifs qu'ils renferment. L'analyse des cendres végétales permet de fixer la nature et les rapports pondéraux de ces éléments. Quant aux matières organiques de la plante, elles dérivent des sucres issus de la synthèse chlorophyllienne.

L'étude des cendres végétales a pris en conséquence une

importance très grande ; mais les anomalies qu'on a enregistrées, en ce qui concerne les rapports pondéraux des éléments qui les composent, sont difficiles à expliquer.

Ces rapports sont variables avec les sols, les fumures ; si un végétal se développe bien dans des conditions différentes, tout en accusant des variations dans la composition de ses cendres, on est bien obligé d'admettre qu'il a absorbé des éléments indifférents ou un excès d'éléments utiles ; il traduit ainsi une certaine tolérance vis-à-vis des substances minérales qu'il n'utilise pas ; mais cette tolérance a des limites, et dès lors il convient de les établir afin d'éviter les extrêmes.

Cette constatation comporte une autre conséquence : c'est que le végétal ne choisit pas entre les diverses substances solubles ou même insolubles qu'il rencontre dans le sol. Il est donc exposé à absorber des substances toxiques ; on sait que l'accident est fréquent et qu'il a été observé sans doute par les premiers cultivateurs.

Quand on veut analyser ces déductions en recourant à l'expérience, on constate d'autres faits non moins intéressants : si on offre à une plante la potasse à l'état de sulfate ou de chlorure, le potassium est assimilé ; mais le chlore et l'acide sulfurique ne sont pas retenus, à beaucoup près, dans le même rapport que la potasse. La racine ferait donc un choix parmi les corps dont la plante se nourrit. Je viens d'énoncer la proposition contraire.

Une semblable contradiction révèle de notre part une ignorance qu'on ne peut songer à dissimuler. C'est à l'étude de ce point particulier que je vais m'attacher tout d'abord.

Les physiologistes ont expliqué ces anomalies, peut-être mal plutôt que bien, en tout cas fort péniblement.

Liebig ne s'y est pas heurté parce qu'il ne pouvait pas les concevoir. Pour lui, la plante se débarrasse des substances nuisibles ou indifférentes en les éliminant peu à peu par les racines.

Déjà avant lui, de Candolle (*Physiologie végétale*) avait admis l'existence d'une fonction excrétrice chez les racines, et il expliquait la nécessité des assolements en partant de cette conception.

Plus tard, une expérience de Walter rapportée par Dehé-

rain (*Chimie agricole*, Paris, 1892) est venue démontrer la non-existence de l'exosmose raculaire. Walter partageait les racines d'une plante en deux faisceaux placés l'un dans de l'eau distillée, l'autre dans des solutions de sulfates, de chlorures etc. A la fin de l'expérience, le chlore et l'acide sulfurique n'existaient pas dans l'eau distillée.

Rautenberg et Kuhn (1) constatent que des plantules de maïs et de haricots acidifient les solutions nutritives lorsqu'on les nourrit avec de grandes quantités de chlorure d'ammonium. L'acidité est suffisante pour faire périr les plantes.

Dans certaines conditions les plantes alcalinisent les solutions nutritives (2).

Plus récemment Czapek (3), en utilisant la méthode des impressions raculaires sur des plaques de phosphate de calcium et d'aluminium, déduit de ses observations l'absence de pouvoir exosmotique chez les racines.

On a admis également l'émission d'acides organiques par les racines. J'ai constaté pour ma part l'exosmose de sucres réducteurs, d'acide lactique par les racines de plantules de pois cultivées à l'abri des microbes. On m'a objecté que la désagrégation des coiffes pouvait donner naissance à des corps capables de réduire la liqueur de Fehling.

L'opinion actuelle des physiologistes est donc peu favorable à l'existence d'une fonction excrétrice chez les racines.

Les bactériologistes, plus familiarisés avec les phénomènes de diffusion qui se produisent entre la cellule vivante et son milieu nutritif, conçoivent difficilement ces restrictions. Les racines des végétaux supérieurs sont des organes aquatiques; si elles absorbent si facilement les substances solubles; on ne voit pas bien pourquoi elles n'en laisseraient pas passer en sens inverse. Quand on plonge des graines ou des plantules entières dans l'eau distillée, elles laissent diffuser des quantités relativement considérables de substances minérales et organiques; cela ne les empêche pas de se développer ensuite, après plusieurs jours d'immersion, ce qui prouve bien que l'exosmose s'est accomplie chez des cellules vivantes.

(1) *Versuchstat...* 1864, t. VI, p. 358.

(2) BOUSSINGAULT, *Chimie agricole*, 1860.

(3) *Jahrb. f. wissen. Bot.* 1896, t. XXIX, p. 231.

Il s'agit de démontrer qu'elle est la règle chez les racines des végétaux supérieurs. Quand ce point sera établi, j'aborderai l'étude de la nutrition minérale dans ses rapports avec le développement de la plante, de façon à en tirer quelques conséquences pratiques au point de vue de l'utilisation des engrais.

II

Recherche d'une méthode expérimentale applicable à l'étude rigoureuse des fonctions physiologiques chez les végétaux supérieurs.

Ce qui paralyse le progrès scientifique, ce n'est pas la pénurie d'idées, c'est l'absence de méthodes expérimentales capables de les vérifier. Les idées marchent toujours plus vite que les faits; c'est pour cela qu'il est indispensable de s'en prendre aux méthodes si on ne veut pas se condamner à l'inertie. J'ai eu déjà, à plusieurs reprises, l'occasion d'insister sur la nécessité de cultiver les végétaux supérieurs dans des solutions nutritives privées de microbes, chaque fois que l'on se propose d'étudier les fonctions physiologiques des végétaux. Il est clair, en effet, que les méthodes des solutions minérales ordinaires, renouvelables à volonté, des milieux solides, sable, charbon, sciure de bois, verre, terre, etc. répartis dans des pots, que le procédé des cultures en pleine terre, utilisés depuis plus d'un demi-siècle par des centaines de chercheurs, ont donné à mon avis tout ce qu'ils peuvent fournir.

Il faut se hâter de reconnaître qu'ils ont constitué jusqu'ici des moyens de recherche très efficaces, puisque toute la science culturelle repose sur les acquisitions qu'ils ont permis de faire. Il ne faut pas oublier non plus que toutes les notions apportées par quelque méthode que ce soit demeurent stériles tant qu'elles n'ont pas été confirmées par la culture en pleine terre.

La méthode des cultures en solutions privées de microbes ne peut cependant donner des résultats probants qu'à la condition de porter sur des milieux qui permettent le développement complet des végétaux, de la germination à la maturation des graines. On doit même exiger que les plantes ainsi traitées se

développent aussi vite que celles qui poussent dans les meilleurs sols. Si on négligeait de remplir ces conditions, il est évident que les faits observés ne pourraient pas être légitimement généralisés, car une plante qui végète péniblement accuse l'influence des facteurs particuliers qui conduisent à des conclusions particulières.

Mais lorsqu'on dispose d'une méthode rigoureuse, les résultats prennent une signification précise et leur valeur scientifique ou leur force probante s'impose à l'esprit en raison même de leur simplicité.

Un fait très curieux que la méthode des solutions aseptiques m'a permis de vérifier à diverses reprises, c'est la différence de sensibilité qui existe entre la plantule et la plante adulte vis-à-vis de la composition des solutions nutritives.

C'est ainsi, par exemple, que les alcools méthylique et éthylique, la glycérine n'empêchent pas la germination du maïs à des concentrations qui atteignent 3 et 4 p. 100; la plante adulte, exposée à la lumière, tolère à peine la présence de doses 10 fois moindres dans les solutions nutritives. Il y a à cela une raison qui est la suivante : la plante adulte exposée à la lumière absorbe les alcools en question et les transforme en aldéhydes; l'oxydation est assez active pour que les petites quantités d'aldéhyde qui restent libres fassent périr la plante.

Une légère alcalinité de l'eau de germination obtenue par les carbonates alcalins empêche l'évolution de la plantule, pendant que le végétal adulte résiste à des doses relativement beaucoup plus élevées sans trahir de gêne apparente.

De même, la résistance de la plantule vis-à-vis des solutions minérales nutritives complètes ou incomplètes est bien plus grande que celle des plantes adultes.

Les indications fournies par des cultures effectuées en partant de la semence n'ont pas toujours la portée qu'on voudrait leur donner, puisque les influences favorables ou défavorables qui se manifestent pendant la période germinative ne conservent plus leur signification quand elles s'exercent pendant l'âge adulte.

Prenons un exemple : faisons germer des semences dans une solution minérale incomplète, c'est-à-dire une solution qui ne renferme qu'une partie des éléments nécessaires au développement de la plante adulte. La germination s'effectue comme dans l'eau distillée, à condition, bien entendu, que la concentration de chacun des sels ne dépasse pas 1 à 2 p. 1000; mais si on poursuit l'expérience au delà de la période de germination, à la lumière, on constate que la plante ne se développe pas mieux dans la solution incomplète que dans l'eau distillée; bien mieux, dans le premier cas, les folioles qui se forment à la lumière se décolorent entièrement pendant que, dans l'eau distillée, elles conservent leur couleur verte normale.

Peut-on généraliser ce résultat et l'étendre à des plantes

adultes, c'est-à-dire à des plantes dont les organes aériens sont bien développés ? Ce serait à mon avis une induction téméraire ; il est plus prudent de consulter l'expérience. Supposons donc qu'on soumette des plantes déjà développées aux influences que je viens de définir. Peut-on *a priori* prévoir ce qui va se passer ? Si on s'en rapporte uniquement aux lois considérées jusqu'ici comme bien démontrées, on pourrait avancer en tablant sur la loi du minimum que les plantes se développeront également bien dans l'eau distillée et les solutions incomplètes, puisque, par hypothèse, elles ont accumulé préalablement des réserves égales de substances minérales. Nous verrons que l'expérience ne confirmera pas cette prévision.

Cette méthode de l'alimentation interrompue est extrêmement précieuse dans l'étude de la physiologie végétale. J'ai déjà montré combien elle a été féconde dans l'étude de la formation de l'acide citrique chez les champignons. On va voir qu'en l'appliquant aux végétaux supérieurs elle va nous permettre d'aborder les problèmes les plus ardu, et de les résoudre d'une façon satisfaisante. Elle permet, en effet, d'agir sur des poids élevés de matière et d'enregistrer des résultats facilement mesurables dont les causes sont alors aisées à découvrir.

Sa mise en œuvre est très simple. On commence d'abord par faire développer les plantes dans une solution complète à l'abri des microbes ; on obtient ainsi au bout de trois à quatre semaines, par une température favorable, des plants de maïs qui atteignent le poids de 15 à 16 grammes, à l'état sec, dans des flacons de 3 litres. Il est donc loisible de les soumettre à divers traitements lorsqu'ils ont acquis un développement convenable. Pour cela on aspire le reste de la solution nutritive ; on lave les racines et le flacon à deux ou trois reprises avec de l'eau distillée stérile, et on introduit, pour terminer, la solution préalablement stérilisée dont on veut suivre l'influence sur le développement du végétal.

III

Observations sur le développement du maïs en solution minérale complète. Probabilités en faveur de l'existence d'une fonction excrétrice des racines.

La solution minérale complète que j'ai utilisée est la suivante; je l'appellerai, pour abrégé S. P.

<i>Eau de la Seine</i> (1).	1000	»
Nitrate de sodium.	1	»
Sulfate d'ammonium	0,25	
Phosphate bi-potassique.	1	»
Sulfate de magnésium + 7 aq	0,20	
Sulfate ferreux + 7 aq	0,1	
Chlorure de manganèse.	0,05	
Chlorure de zinc	Traces.	
Silicate de potassium.	Traces.	
Carbonate de calcium.	2	»

Cette solution minérale stérilisée à 120 degrés pendant vingt à trente minutes ne conserve pas sa composition. Les bases terreuses sont mises en liberté, ou précipitées à l'état de carbonates ou de phosphates.

Le liquide stérilisé est parfaitement limpide en raison du collage qu'il a subi pendant le chauffage; le dépôt de carbonates et de phosphates est assez cohérent et peu facile à mettre en suspension.

La solution a une réaction acide à la phénol-phthaléine. Les caractéristiques de la partie limpide sont les suivantes :

Extrait à 100 degrés par litre en grammes	2,724
Extrait au rouge par litre en grammes	1,622
Alcalinité des cendres p. 100	6,42
Acidité de la liqueur limpide par litre exprimée en NaOH employée pour la neutraliser :	
Avant stérilisation.	0,384 gr. par litre.
Après stérilisation	0,184 — par litre.

Si on introduit des plantules de maïs âgées de dix à douze

(1) La nature des recherches que j'expose dans ce mémoire exigeait la substitution de l'eau de Seine à l'eau distillée. Cette précaution est une garantie sûre de la présence des cendres rares dans la solution nutritive, ce qui permet d'attribuer les résultats observés aux seules influences que l'on met en œuvre par les modifications apportées à la composition de la solution nutritive.

jours dans cette solution en prenant la précaution de ne pas l'agiter, on observe le fait suivant.

Les plantes placées dans des flacons de 2 litres se développent plus vite que celles qui sont introduites dans des flacons de 3 litres et celles-ci prennent une avance marquée sur celles des flacons de 10 litres (photo. 1).

En suivant le développement [des racines], on découvre les raisons de cette particularité. Dans les flacons de 2 litres, les racines atteignent le dépôt insoluble quelques jours plus tôt que

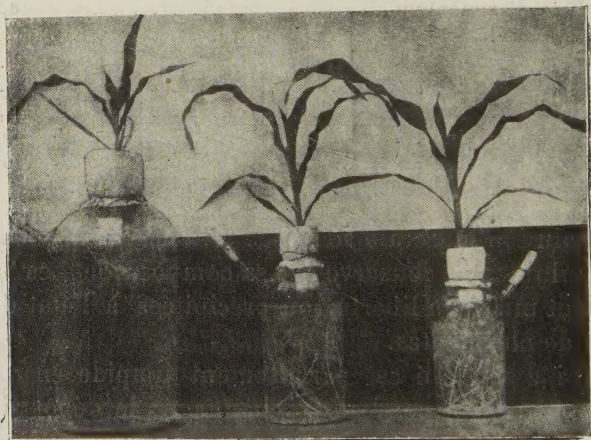


PHOTO. 1.

dans les flacons de 3 litres. A partir du moment où elles parviennent jusqu'au dépôt, elles absorbent les substances insolubles qui le forment et la végétation acquiert un surcroît d'activité.

Dans les flacons de 10 litres, les racines ne peuvent pas atteindre le dépôt insoluble. Celles qui partent des premiers nœuds, plus grosses et plus rigides que la racine principale, produisent des ramifications si longues et si ténues qu'elles remontent à la surface du liquide au lieu de progresser vers le fond.

Pour faire cesser l'état de souffrance ou plutôt le retard qui résulte de cet inconvénient, il suffit d'agiter le liquide pour mettre le dépôt en suspension ; les particules solides viennent

alors se poser sur les racines et les plantes prennent à leur tour un essor régulier, mais le retard reste acquis.

Ces faits tendent à prouver que les racines absorbent facilement les substances nutritives insolubles grâce sans doute à des sécrétions radiculaires.

On attribue ce résultat à l'acide carbonique.

Quand les racines se développent dans un milieu solide comme le sol, elles enserrant les particules terreuses d'un feuillage très adhérent de radicules et de poils radicaux. On peut supposer que la mince lame d'eau qu'elles entretiennent autour d'elles, en vertu des forces capillaires, est plus riche en acide carbonique que celle qui s'étend autour des particules solides; mais quand il s'agit d'une solution nutritive, tout l'acide carbonique diffusé se répartit dans la masse liquide: l'effet me semble dans ces conditions hors de proportion avec la cause qui le produit, car l'acide carbonique existe dans le liquide à une concentration fixée par la pression qu'il possède dans l'atmosphère, et son action dissolvante s'exerce d'une façon permanente; l'effet observé ne se produit cependant que lorsque les racines prennent contact avec le dépôt, et comme il devient immédiatement sensible, on est porté à supposer l'intervention d'un acide plus énergique que l'acide carbonique.

Mais alors on doit se demander aussi pourquoi cette action d'un acide énergique ne se fait pas sentir plus tôt; elle appelle donc la même objection que celle que je viens d'adresser à l'acide carbonique, car ce dernier est plus abondant aussi au voisinage de son point de dégagement. La différence s'explique cependant très bien par ce fait que l'élongation des racines devance la diffusion des acides forts, de sorte que leur présence ne se révèle qu'à partir du moment où le dégagement se produit au contact du dépôt même, tandis que l'acide carbonique, préalablement dissous dans la solution, aurait pour résultat de masquer ou d'atténuer la solubilisation du dépôt, s'il était seul en jeu.

Si les racines excrètent des acides, on doit admettre aussi qu'elles peuvent éliminer des bases. L'alcalinisation de la solution nutritive doit donc se produire aussi facilement que son acidification; je dois ajouter d'ailleurs que dans ce que je viens de dire au sujet de la solubilisation du dépôt au contact des

racines, je n'ai envisagé qu'un côté de la question. Les bases agissent comme dissolvants au même titre que les acides. L'exosmose de la soude est aussi vraisemblable que celle des acides sulfurique ou chlorhydrique.

Ceci étant dit, voyons les faits. Les maïs cultivés dans SP se développent avec une régularité très satisfaisante lorsqu'ils sont placés dans des solutions d'égal volume. La photographie 2, prise le 7 juillet, en donne une idée. Le 20, les solutions nutritives sont réduites de près de moitié en raison des

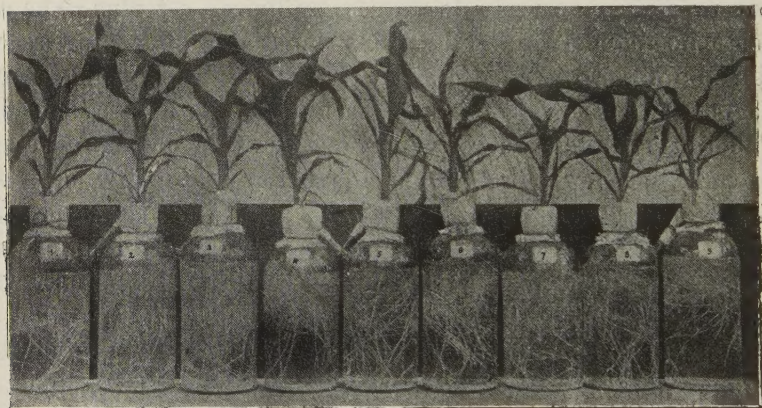


PHOTO. 2.

pertes produites par la transpiration. A partir de ce moment, on partage les plantes en deux lots qui reçoivent respectivement les solutions suivantes.

A		B	
Nitrate de sodium. . . .	2,125	Nitrate d'ammonium. . . .	1,275
Phosphate de potassium .	1 »	Phosphate de potassium .	1 »
Sulfate d'ammonium	0,4	Sulfate de magnésium. . .	0,4
Carbonate de magnésium .	1 »	Carbonate de magnésium .	1 »
Eau de la Seine.	1000 »	Eau de la Seine.	1000 »
Sulfate ferreux.	Traces.	Sulfate ferreux.	Traces.

Ces solutions stérilisées à 120 degrés sont introduites dans les flacons avec les précautions usitées pour éviter la contamination par les germes extérieurs. Elles sont distribuées au fur et à mesure des besoins; ce sont donc les plantes qui transpirent le plus

qui reçoivent les volumes les plus grands. Il s'agit, en effet, de mettre en évidence le rôle de la soude; la solution A renferme de grandes quantités de soude; la solution B n'en contient pas; de plus, l'azote de B étant assimilable sans résidu, la réaction de la liqueur ne peut varier qu'avec la concentration; on aura ainsi un milieu qui conservera à peu près sa réaction primitive et qui pourra servir de témoin à la solution A, dans laquelle j'ai introduit une petite quantité de sulfate d'ammonium afin d'éviter une concentration trop élevée en nitrate de sodium.

La végétation est très active dans ces solutions; mais comme la concentration s'élève rapidement, elle s'arrête après la floraison. Nous avons donc à ce moment des plantes qui sont paralysées par excès d'aliments. Cela me permettra de revenir sur l'action des solutions nutritives trop concentrées sur le développement du maïs, par comparaison: 1° avec des plantes témoins qui ont évolué en milieu moins riche; 2° avec des plantes soumises à l'alimentation interrompue telle que je l'ai définie page 710.

Le tableau I donne la nature et la grandeur des réactions des solutions nutritives à la fin de l'expérience, c'est-à-dire à une exception près, le n° 5, au moment où l'on constate que les plantes ne se développent plus. L'acidité est évaluée en acide sulfurique, l'alcalinité en soude par litre, l'une et l'autre étant déterminées au moyen de la phénolphthaléine.

Dans ce tableau, c'est l'alcalinité seule qui nous intéresse; elle ne peut être attribuée qu'à la soude; l'acidité, qui reste très sensible même après la stérilisation à 120 degrés en présence de carbonate de calcium, est due au phosphate acide que j'ai utilisé en pensant, à tort, que la neutralisation serait assurée par le carbonate de calcium.

Si ces cultures avaient été réalisées dans les conditions ordinaires, c'est-à-dire en présence de microbes, on aurait trouvé sans peine la raison de l'acidification ou de l'alcalinisation des milieux nutritifs.

Dans la solution B, la nitrification de l'ammoniaque est possible dans les conditions ordinaires; l'acide nitrique ainsi formé déplace une partie des acides sulfurique, phosphorique, chlorhydrique et carbonique présents dans la solution; et comme il n'y a pas de raison d'admettre que, dans ces conditions, le car-

bonate de calcium en excès neutralise ces acides, puisque la neutralisation n'est déjà pas complète même à chaud, l'acidité résultant de la nitrification reste très sensible.

TABLEAU I

N ^{os} d'ordre.	POIDS de la plante sèche en grammes.	VOLUME de liquide restant.	ALCALINITÉ en NaOH par litre.	ACIDITÉ en SO ⁴ H ² par litre,
<i>Solution A.</i>				
1	31,82	560 cent. cubes.	0,492	»
2	28,735	660 —	0,471	»
3	21,341 (1)	460 —	0,530	»
4	41,54	460 —	6,800	»
5	69,211	2.600 —	0,336	»
<i>Solution B.</i>				
6	42,12	530 cent. cubes.	»	0,999
7	30,42	370 —	»	0,392
7	38,46	570 —	»	0,833
8	18,90 (1)	750 —	»	1,444

(1) Ces deux plantes, qui appartenait à la même série que les autres, se sont mal développées dès le début sans cause apparente; elles sont toujours restées en retard, mais elles ont fleuri normalement.

D'un autre côté, la solution A aurait donné lieu à une dénitrification très active; la décomposition de l'acide nitrique a, comme conséquence immédiate, une alcalinisation de la liqueur. Ce phénomène a certainement faussé les recherches de cette nature bien plus souvent qu'on ne le pense.

Mais dans les solutions stérilisées, l'acidification ne peut pas se justifier de cette manière, c'est bien à l'influence immédiate de la plante qu'il faut l'attribuer; rien ne nous autorise cependant à affirmer que la soude mise en liberté par l'assimilation de l'acide nitrique ait été excrétée par les racines après une absorption préalable à l'état de nitrate de sodium. Il est donc nécessaire de montrer que les substances minérales absorbées par les racines et non utilisées par la plante font retour à la solution nutritive.

IV

Excrétion des substances minérales par les racines.

La méthode de l'alimentation interrompue va nous permettre de résoudre le problème posé.

Des plants de maïs développés dans la solution S. P. sont privés à un moment convenable du reste de leur solution nutritive. On lave les racines à deux reprises différentes avec de l'eau distillée stérilisée et on soumet les plantes ainsi préparées à l'action des trois liquides suivants répartis respectivement dans des flacons de 3 litres, et stérilisés à la température de 120 degrés.

N° 1. Eau distillée	1.000
Carbonate de calcium.	2
N° 2. Eau distillée.	1.000
Nitrate de sodium.	1
Carbonate de calcium.	2
N° 3. Eau distillée	1.000
Phosphate de potassium.	1
Carbonate de calcium.	2

La présence du carbonate de calcium a pour but de reproduire les conditions que la plante trouve dans le sol qui renferme toujours une certaine quantité de calcaire. J'aurais pu employer comparativement les mêmes liquides sans carbonate de calcium ; mais ces expériences réclament beaucoup de soins et de surveillance et il est prudent de ne pas trop entreprendre à la fois ; chaque sujet sera abordé à son tour.

Les plantes 2 et 3 n'ont pas développé de nouvelles feuilles pendant toute la durée de l'expérience ; la photographie [3] prise le 20 septembre donne donc une idée de l'état initial des 3 plantés et reproduit leur état final.

Le n° 1 a formé un grand nombre de feuilles ; il a donné un épi mâle stérile ; l'épi femelle est resté à l'état embryonnaire.

La plante n° 1 a évaporé près de 6 litres d'eau ; quand les 3 premiers litres ont été réduits à 300 centimètres cubes environ, on a siphonné le résidu pour le soumettre à un examen

analytique, et on a rempli de nouveau le flacon avec 3 litres d'eau distillée. Cette opération a été faite dix-huit jours après le début de l'expérience; le liquide restant dans les n^{os} 2 et 3 n'a été examiné qu'à la fin de l'expérience; à ce moment le n^o 1 avait absorbé le contenu de son flacon jusqu'à la dernière goutte.

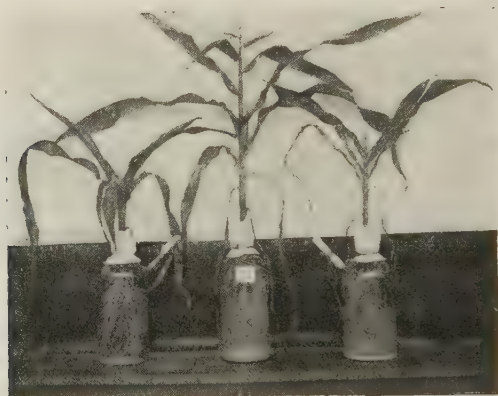


PHOTO. 3.

J'ai résumé dans le tableau suivant les résultats qui concernent l'exosmose radiculaire.

TABLEAU II

NUMÉROS des plantes.	DURÉE de l'expérience.	POIDS SEC des plantes.	VOLUME RESTANT de la solution.	ALCALINITÉ en NaOH par litre.	EXTRAIT à 100 degrés par litre.	EXTRAIT au rouge.	DIFFÉRENCE des deux extraits.
	jours	grammes	cent. cubes	grammes	grammes	grammes	grammes
1	18	30,59	300	Neutre.	0,400	0,134	0,266
2	58	19,456	570	0,140	7,132	5,902	1,230
3	58	7,564	1.320	0,600	2,310	2,075	0,235

Tous ces liquides renferment des substances minérales et des matières organiques; celles-ci proviennent de la plante et

renferment de petites quantités de sucres réducteurs; mais la différence des deux extraits fournis par le n° 2 est due en grande partie à la décomposition des nitrates au rouge.

L'extrait au rouge donne des cendres fusibles, alcalines qui renferment des chlorures et des sulfates, mais pas d'acide phosphorique (n°s 1 et 2). Dans la plante n° 3, les chlorures sont abondants, les deux extraits sont déliquescents; abandonnés à l'air, ils deviennent liquides; 2 gr. 5782 d'extrait à 100 degrés absorbent à l'air libre 0,7382 gr. d'eau; cette déliquescence est due aux chlorures et au carbonate de potassium. Chauffé au rouge il reste 1,7012 gr. d'extrait qui absorbent 3,0566 gr. d'eau dans l'air saturé d'humidité (1).

Les n°s 1 et 2 donnent des extraits non déliquescents, ce qui s'explique par ce fait que ces deux plants ont gagné beaucoup de poids; la réserve de substances minérales empruntées à la solution S. P. a été utilisée; l'extrait des liquides restants renferme cependant beaucoup de sulfates, peu de chlorures, car le chlore a été donné avec parcimonie (voir p. 14).

La plante n° 3 a abandonné à l'eau distillée une partie sensible de ses réserves, parce qu'elle ne s'est pas développée. Pendant la stérilisation à 120 degrés, l'acide phosphorique précipite sous forme de phosphate tricalcique; le liquide est alcalin et arrête complètement le développement de la plante qui devient, d'ailleurs, chlorotique. L'alcalinité finale, qui est très élevée, ne doit pas être attribuée à une action directe de la plante.

Il n'en va pas de même de l'alcalinité de la solution.

Il ne se produit pas d'échanges entre le nitrate de sodium et le carbonate de calcium, même à 120 degrés. La solution reste neutre; si elle devient alcaline, c'est parce que le nitrate de sodium est décomposé, l'acide nitrique est partiellement transformé en ammoniaque; la soude mise en liberté est excrétée par les racines; la plante n° 2 a gagné 5 grammes, ce qui justifie cette assimilation d'azote nitrique.

La conclusion qui se dégage de ces faits est donc très nette. La plante excrète les substances minérales qu'elle n'utilise pas; si dans les aliments minéraux qu'on lui offre la base est

(1) J'y ai trouvé en outre de la magnésie, du zinc et du fer.

assimilée, c'est l'acide qui fait retour à la solution nutritive ; si c'est la base qui est retenue, c'est l'acide qui est excrété (tableau I). Le nitrate, le phosphate de sodium produiront toujours une alcalinisation de la solution nutritive ; le sulfate, le chlorure d'ammonium l'acidifieront : le nitrate, le phosphate d'ammonium offerts à un état de concentration convenable la laisseront neutre.

J'aurais pu analyser ces extraits en détail, et apporter des chiffres à l'appui de mes conclusions ; c'est une lacune qui sera comblée par des recherches ultérieures ; je me suis attaché d'abord à déterminer les conditions du phénomène ; et comme ces mêmes plantes ont servi en même temps à d'autres démonstrations, le peu de substances dont je disposais aurait rendu les déterminations quantitatives assez difficiles.

L'existence de la fonction d'excrétion chez les racines étant établie, il sera facile par la suite de pénétrer dans le détail du phénomène.

On conçoit toute l'importance de cette conclusion, car tout le mécanisme de défense de la plante vis-à-vis des substances toxiques, vis-à-vis des excédents de matières minérales que les racines absorbent, réside dans ce mécanisme. Son mode d'action sur les substances minérales insolubles y trouve son explication, et toutes les anomalies que présente la composition des cendres végétales, qui n'ont pu se justifier jusqu'ici que par des artifices de raisonnement, reçoivent une interprétation aussi simple qu'évidente.

Elle apporte, enfin, l'argument tant invoqué en faveur de la nécessité des assolements, car si dans les fumures minérales ou organiques on ne se soucie guère de la restitution des acides minéraux autres que l'acide phosphorique, il est facile de concevoir que les emprunts inégaux d'acides minéraux, ou, si l'on préfère, de soufre et de chlore, etc..., épuisent inégalement les réserves du sol et obligent le cultivateur à recourir aux cultures alternantes. Il est non moins aisé de découvrir, avec le concours de la fonction excrétrice des racines, que les éléments nutritifs ne sont pas les seuls qui importent dans la fertilité effective du sol parce qu'ils font partie intégrante du végétal ; à côté de ce rôle alimentaire, l'acide sulfurique et l'acide chlorhydrique peuvent exercer, en outre, un rôle utile, soit comme

véhicules pour l'élimination de la soude et de la chaux en excès, soit encore comme moyen d'action de la plante sur les aliments insolubles; la soude elle-même agit comme dissolvant à mesure qu'elle est restituée au sol par les racines à l'état de carbonate de sodium; voici donc des influences qu'on n'a jamais fait intervenir dans les rapports de la plante avec le sol; je montrerai qu'elles se manifestent d'une manière permanente et souvent avec une grande énergie, en reprenant les théories de la nutrition minérale des végétaux dans les parties qui, jusqu'ici, ne satisfont guère l'esprit.

Il est curieux, cependant, de constater avec quelle assurance Liebig avait admis l'exosmose des substances minérales par les racines (1); mais il semble que, sur ce point particulier, il ne soit pas resté longtemps fidèle à son opinion première. Il n'y fait plus allusion dans les 50 aphorismes où il résume les principes de sa théorie minérale (2).

Dehérain a tenté de démontrer l'existence de la fonction excrétrice chez les racines; mais les essais qu'il a réalisés avec des lentilles d'eau (*Lemna minor*) ne lui ont donné que des résultats négatifs (3). Ses expériences confirment donc les conclusions de Walter dont les recherches ont porté sur des végétaux terrestres.

Quand on soumet les racines d'une plante au traitement imaginé par Walter, il est facile de concevoir que le végétal absorbe surtout l'eau distillée et non la solution minérale incomplète qui renferme du chlore ou de l'acide sulfurique à l'état de sels solubles; la diffusion des sels de la solution minérale vers l'eau distillée se fait donc très lentement, si on admet toutefois qu'elle est possible, puisqu'elle est constamment gênée par le courant inverse qui est très sensible; on peut prévoir que l'expérience ainsi réalisée donnera des résultats négatifs, le plus souvent, d'après les chiffres du tableau II; mais si on avait recherché dans la solution minérale les substances étrangères que la plante y avait laissé diffuser, on y aurait trouvé un certain nombre d'éléments minéraux qu'on n'y avait pas introduits.

Je n'ai pas répété l'expérience de Walter parce qu'elle ne se prête pas à l'application des méthodes de cultures sans microbes; mais je l'ai reproduite avec deux plantes séparées, et j'ai obtenu ainsi des résultats avec l'eau distillée comme avec les solutions minérales incomplètes, avec cette différence qu'ils sont bien plus accusés dans ces dernières; mais il ne faut pas oublier que mes expériences ont duré plusieurs semaines; le temps est, en effet, un élément essentiel de succès dans ces sortes de recherches.

Quant à la méthode des impressions radiculaires, elle ne peut donner que des résultats irréguliers puisque les excréctions peuvent être acides, neutres ou alcalines suivant la nature du sol ou la composition des solutions nutritives.

(1) LIEBIG, *Chimie organique appliquée à la physiologie végétale et à l'agriculture* (p. 104). Traduction Ch. Gerhardt (Masson et C^{ie}), 1841.

(2) GRANDEAU, *Chimie et physiologie appliquées à l'agriculture et à la sylviculture* (Berger-Levrault et C^{ie}), 1879.

(3) *Traité de chimie agricole*, p. 185. Masson, édit., 1892.

Je dois revenir maintenant sur quelques-unes de mes observations antérieures qui prennent une signification précise quand on les envisage à la lumière des résultats que je viens d'exposer.

Quand on place de jeunes plantules de maïs dans des solutions minérales incomplètes, on constate qu'elles se décolorent complètement à la lumière, pendant que les plantules placées dans l'eau distillée conservent leur couleur verte. A part la disparition de la chlorophylle on n'observe aucune différence sensible entre les deux groupes de plantes; j'ai interprété ces résultats en disant que la solution minérale incomplète soustrait à la plantule les éléments inorganiques que la graine lui fournit pendant la période germinative. Les faits que j'ai relatés dans ce chapitre confirment cette hypothèse.

J'ai décrit aussi en détail l'influence de l'azote nitrique et de l'azote ammoniacal sur le développement du maïs ou, plus exactement, l'influence du nitrate de sodium et du sulfate d'ammonium. Après avoir montré que le sulfate d'ammonium constitue pour le maïs un aliment azoté aussi efficace que le nitrate de sodium, j'ai enregistré un certain nombre de faits sans les commenter pour la raison bien simple qu'ils me paraissaient difficiles à interpréter. C'est ainsi, par exemple, que dans une solution minérale où l'on introduit un mélange de nitrates et de sels ammoniacaux en proportions variables, on constate parfois que c'est l'azote ammoniacal qui est absorbé de préférence; parfois c'est l'azote nitrique qui disparaît en plus grande quantité. Ces résultats, qui peuvent varier à l'infini avec la composition de la solution nutritive, obéissent à une loi générale que l'on pourra établir par la suite, et qu'on entrevoit dès maintenant à la faveur de la fonction d'excrétion des racines; en anticipant sur les faits, il semble qu'on puisse la formuler de la façon suivante : *L'azote basique et l'azote acide sont assimilés dans un rapport tel qu'il n'en résulte pas de changement de réaction dans la sève végétale ou dans la liqueur nutritive.*

J'ai donné enfin sur l'influence du sulfate d'ammonium des renseignements qu'il est utile de modifier ou de compléter. Le maïs se développe très vigoureusement dans les solutions de sulfate d'ammonium; mais quand la concentration de ce sel dépasse 0,5 p. 1.000, les racines prennent un aspect caractéristique; les racines adventives courtes et rigides présentent des ramifications nombreuses; mais ces ramifications ne s'allongent pas non plus, et, à mesure que la concentration s'élève jusqu'à 1,5 et 2 p. 1.000, l'ensemble du système racinaire donne de plus en plus l'impression d'un buisson d'épines.

En même temps, la couleur des feuilles passe du vert foncé au vert brun. Dans une solution de concentration donnée, ces caractères peu accentués au début de la végétation s'accroissent avec les progrès de la plante; ils se présentent donc comme la conséquence d'une modification dans la composition de la solution nutritive survenue au cours de la végétation; cette modification devient plus sensible avec le temps, car elle est suffisante pour faire périr en quelques semaines une plante qui a développé 4 ou 5 feuilles normales à la faveur de conditions moins défavorables.

Il est clair que la concentration de la liqueur en sulfate d'ammonium, que j'avais seule mise en cause, n'est pas l'unique facteur qui intervient dans ces conditions; la plus grande part d'action revient au contraire à l'acidification progressive de la sève et de la solution par l'acide sulfurique non assimilé.

C'est à l'acide sulfurique aussi qu'il faut attribuer l'exaltation du vert chlorophyllien; son action est peut-être plus ou moins médiate; mais il est certain que ce résultat ne s'observe pas au même degré ni avec le nitrate d'ammonium ni même avec le chlorure, en prenant la précaution de fournir

dans tous les cas l'ammoniaque en quantités équivalentes. L'acide sulfurique apparaît donc comme un antidote de la chlorose.

Quand on préconise le sulfate de fer comme remède à la chlorose végétale, c'est plutôt à l'acide sulfurique qu'il faut rapporter les effets observés : voilà une déduction qu'il sera facile de vérifier ; ce n'est pas la première fois que cette opinion a été formulée.

Tous les vignerons savent par expérience que les sulfatages anticryptogamiques exaltent la couleur verte des feuilles.

V

Excrétion des substances organiques.

Puisque l'exosmose radiculaire des substances minérales existe, l'excrétion des substances organiques est possible.

Quand on fait l'extrait du résidu de la solution nutritive qui a alimenté un pied de maïs, on constate qu'il renferme des quantités sensibles de matières organiques. Quand le liquide est envahi par les bactéries, leur pullulation est une preuve visible de la présence des substances organiques solubles. La désagrégation de la coiffe et la chute des poils absorbants fournissent sans doute une partie de ces matières ; mais on se demande jusqu'à quel point ces substances sont capables de subvenir aux besoins de véritables cultures microbiennes.

L'abondance des microbes est si grande qu'on ne peut admettre sans réserve qu'ils ne soient pas alimentés par des composés plus favorables à leur développement que les matières cellulosiques ou pectiques qui proviennent des poils absorbants.

On m'a objecté que les substances réductrices dont j'avais signalé la présence dans l'eau distillée où plongent les racines de plantules de pois, proviennent de la désagrégation des coiffes ; je n'ai pas relevé la critique, mais cela ne veut pas dire que je me sois incliné devant cette interprétation, qui ne mérite pas la moindre considération.

Parmi les substances organiques les plus faciles à caractériser se trouvent en effet les sucres et les acides organiques ; les matières azotées sont aussi faciles à mettre en évidence, mais j'ai limité mes investigations aux deux premiers groupes,

Dans la série de plantes que j'ai cultivées pendant l'été

de 1909, j'en ai rencontré peu qui se prêtaient à la recherche des sucres, et cela pour deux raisons.

C'est d'abord la saison, qui a été très peu favorable à la synthèse active des sucres; ce sont ensuite les conditions de l'expérience, qui rendaient l'accumulation des sucres difficile puisque les solutions minérales ont été enrichies à dessein pour provoquer l'arrêt de la végétation par pléthore de substances nutritives.

Mais les pieds cultivés dans la solution S. P. jusqu'à épuisement à peu près complet du liquide ont donné des résultats probants.

L'un d'eux, arrêté le 7 août, après huit jours consécutifs de beau temps, au moment où les 3 litres de solution S.P. étaient réduits à 150 centimètres cubes, avait laissé passer dans la solution 57 milligrammes de sucres réducteurs.

L'extrait est légèrement acide, sirupeux et douceâtre au goût; en présence de phénylhydrazine il donne à chaud des cristaux acidulés groupés en houppes ou en branches de genêt, assez courts, très bien formés, et très longs au contraire par refroidissement; ces cristaux sont donc des cristaux de glucosazone ou de lévulosazone; les cristaux de maltosazone n'existent pas.

La plante pesait à l'état sec 14 gr. 798; elle renfermait en tout 231 milligr. 5 de sucres réducteurs, à peine 4 fois plus que la quantité trouvée dans la solution nutritive. On voit donc qu'il ne faut pas songer à attribuer le glucose excrété à la désagrégation des cellules de la coiffe dont le poids total ne représente qu'une fraction insignifiante du sucre trouvé. L'extrait sec à 100 degrés ne renferme d'ailleurs en tout que 84 milligrammes de matières organiques.

Un autre pied de maïs, placé le 27 juillet dans l'eau distillée, avait excrété à cette époque 31 milligr. 5 de sucres réducteurs dosés dans le résidu de la solution nutritive 1 l. 560, siphonné afin de soumettre la plante à l'autophagie.

Un troisième, alimenté avec du nitrite de sodium à 0,5 p. 1.000, a excrété 15 milligrammes de sucres réducteurs.

Les autres plantes, qui sont restées en observation jusqu'à la fin de septembre et même plus tard, ont perdu moins de sucre par exosmose; mais j'ai toujours rencontré de petites quantités

de substances réductrices dans les extraits de leurs solutions nutritives.

Il est d'ailleurs facile de concevoir que l'époque la plus favorable à l'exosmose des sucres est celle où le développement radiculaire est très actif. Si la croissance des racines coïncide avec une période de beaux jours, on aura toujours plus de chances de rencontrer des quantités sensibles de sucres dans les solutions nutritives.

Les acides organiques, toujours présents dans le suc des végétaux à l'état libre, ou de composés salins, sont susceptibles comme les sucres d'alimenter le courant exosmotique radiculaire. C'est d'ailleurs dans cette voie que se sont dirigés de préférence les efforts tentés par les physiologistes pour mettre en évidence l'élimination des substances organiques par les organes souterrains de la plante.

L'acidité du suc de maïs est due à peu près exclusivement à l'acide malique. J'ai donc recherché de mon côté la présence d'acide malique dans les solutions nutritives. *A priori*, on serait plutôt tenté de porter ses investigations du côté des solutions qui s'acidifient fortement; mais ces liquides sont plus pauvres en matières organiques que les solutions alcalines.

Par contre, on en trouve des quantités sensibles dans les solutions alcalines. Le fait n'a rien de surprenant en lui-même; on s'explique en effet que l'acidité de la sève et du suc cellulaire étant une des conditions de l'existence même du végétal, la plante adulte doit, dans une certaine limite, pouvoir résister à l'influence nuisible des bases inassimilables, en neutralisant leurs effets soit par leur combinaison avec un acide minéral, soit, en l'absence de ces derniers, par l'élaboration d'acides organiques, fonction générale dont la souplesse se prête bien à ce rôle particulier.

Ce qui est plus singulier, c'est de constater que les racines dont le suc est acide plongent dans une solution minérale dont elles entretiennent l'alcalinité. Ce fait paradoxal en apparence nous met donc en présence une fois de plus de cette contradiction que j'ai déjà signalée page 706, et que l'on ne peut éviter, à première vue, qu'en admettant chez les racines la faculté de faire un choix parmi leurs aliments minéraux.

Mais on peut en donner une interprétation satisfaisante. Les

racines, comme tous les organes du végétal, consomment pour leur entretien et leur croissance des substances organiques au nombre desquelles figurent les acides organiques. Dans les organes détachés, comme dans les plantes entières placées à l'obscurité, comme dans les fruits cueillis avant leur maturité, on constate la disparition des réserves hydrocarbonées; la diminution de l'acidité est d'autant plus vive que la température est plus élevée. Les acides organiques libres ou combinés aux bases qui affluent vers les racines sont donc utilisés par ces organes, de sorte que c'est l'excédent seul qui passe dans la solution. Une partie des bases excrétées se trouve ainsi éliminée au niveau de ces organes à l'état de carbonate.

Dans les solutions nutritives pourvues de nitrate de sodium, qui s'alcalinisent progressivement par l'exosmose de la soude, on peut caractériser sans peine l'acide malique en opérant sur 4 ou 5 grammes d'extrait sec. On obtient en présence de chlorure de calcium et d'ammoniaque en excès, par addition d'alcool en quantité suffisante, un précipité floconneux amorphe qui se réunit peu à peu au fond des vases tout en adhérant partiellement à leurs parois. Mais la précipitation n'est jamais complète et il est prudent d'éviter d'introduire dans la liqueur une trop grande quantité de chlorures de sodium ou d'ammonium pendant les précipitations successives des bases et des acides minéraux, car le malate de calcium reste en solution en présence de grandes quantités de chlorures. Le précipité essoré, lavé à plusieurs reprises à l'alcool, permet ensuite de caractériser l'acide malique par les procédés ordinaires.

Parmi les substances organiques excrétées par les racines, on a signalé l'amylase (1) et la sucrase (2).

J'ai recherché de nouveau ces diastases dans les solutions nutritives acides, car il est inutile d'essayer de les découvrir dans les solutions alcalines où elles ne se conservent pas.

Mes essais m'ont donné des résultats négatifs. Les solutions nutritives étaient additionnées de 2 p. 100 de fécule préalablement transformée en empois ou de 4 p. 100 de saccharose. Les mélanges et solutions ainsi préparés étaient répartis par

(1) J. LAURENT, Thèse présentée à la Faculté des Sciences. Paris, 1903.

(2) P. MAZÉ et A. PERRIER, ces *Annales*, décembre 1904.

50 centimètres cubes dans des tubes de volume convenable. 1 tube de chaque lot était plongé dans l'eau bouillante pendant cinq minutes et servait de témoin.

On plaçait le tout au bain-marie à 53 degrés pendant quarante-huit heures.

La liquéfaction de l'empois se faisait assez vite et on observait également sa saccharification partielle ; le saccharose s'intervertissait faiblement. Mais les témoins ont régulièrement donné le même résultat que les tubes non chauffés, avec plutôt un léger excès de sucres réducteurs, bien que ces derniers aient été chauffés pendant cinq minutes à la fin de l'expérience.

Cependant les solutions nutritives S. P., A, B ne renfermaient ni amidon ni saccharose ; les conditions de l'expérience n'étaient donc pas les mêmes ; mais malgré cela, il faut attribuer l'inversion du saccharose et la saccharification de l'amidon en présence des racines à l'acidité de la solution nutritive, car les expériences reprises en 1910 ont confirmé cette conclusion : la sucrase et l'amylase n'existent pas dans les solutions nutritives additionnées de saccharose ou d'amidon.

VI

Rôle des stomates aquifères dans l'élimination des substances minérales de la sève.

L'exosmose radiculaire n'est pas la seule voie par où s'éliminent les éléments minéraux inutilisés qui circulent dans la sève des végétaux. Les stomates aquifères constituent aussi des portes de sortie pour les mêmes substances.

L'élimination des matières salines par les stomates aquifères a été observée depuis longtemps par les physiologistes. Nobbe, en particulier, avait admis que ce fait est une conséquence de la concentration des solutions nutritives dans lesquelles plongent les racines.

J'ai eu l'occasion de suivre de près ces phénomènes et d'en enregistrer les causes.

Pour faire ressortir la valeur de mes observations je dois dire d'abord que mes cultures de maïs en solutions aseptiques sont

faites dans une véranda fermée (Pl. VII), dont les fenêtres ne sont ouvertes que par les temps calmes.

Le dépôt de rosée ne peut s'y faire même par les nuits fraîches car la température nocturne y reste toujours supérieure à 20 degrés. C'est, au contraire, une évaporation du liquide exhalé que l'on observe. Les gouttelettes d'eau qui perlent de préférence le long des bords des feuilles, aux terminaisons des nervures, ne peuvent parvenir que de la sève de la plante.

Dès que le soleil disparaît à l'horizon, le liquide se met à suinter; s'il peut se réunir en gouttelettes sur les feuilles, il laisse en s'évaporant un dépôt nettement visible.

L'exhalation du liquide n'est pas en rapport avec la concentration des solutions. Elle s'observe aussi bien avec la solution P (voir p. 730) diluée à la moitié ou au quart qu'avec la solution entière. Elle se manifeste jusqu'à la floraison; elle cesse quand la fécondation s'est effectuée, parce que les substances minérales de la plante émigrent en masse vers les graines et ne peuvent plus gêner les cellules des feuilles en s'accumulant dans ces organes.

L'exsudation cesse également dès que la solution nutritive est épuisée.

L'abondance des pleurs est en rapport avec l'activité de l'assimilation; très abondants après une journée chaude et ensoleillée, ils sont rares ou manquent même complètement par les temps nébuleux et humides.

On peut provoquer leur formation en plaçant les plantes dans un endroit obscur ou faiblement éclairé, surtout si elles étaient exposées à un soleil ardent; les gouttelettes apparaissent au bout de quatre à cinq minutes à l'obscurité.

Le liquide ainsi exsudé renferme des nitrates, des sels ammoniacaux, des chlorures, des sulfates et des substances organiques; on peut les mettre en évidence sans concentration préalable du liquide.

Les éléments minéraux solubles de la sève sont donc ainsi en partie éliminés, la plante ne fait pas un choix entre les substances utiles et les substances qu'elle ne peut assimiler; mais il est vraisemblable que ce sont ces dernières qui s'accumulent de préférence dans la sève, surtout lorsque l'assimilation est très active; c'est pour cela que l'exhalation d'eau est

plus abondante après les jours chauds et clairs, si bien que l'on peut affirmer que ce phénomène joue le même rôle que la fonction urinaire chez les animaux.

Quand on constate l'intensité de ce travail d'exsudation, on est bien obligé d'admettre qu'il se produit ainsi une déperdition sensible des substances minérales absorbées par les racines.

On explique donc facilement, soit par les excrétions radiculaires, soit par l'exhalation de liquides salins par les feuilles, les pertes de substances minérales que l'on a observées fréquemment chez les végétaux supérieurs.

Ces faits expliquent également l'abondance et la précocité de la *rosée* qui se forme même avant le coucher du soleil sur les végétaux de la grande culture après les belles journées de printemps. En réalité ce n'est pas un dépôt de rosée qui se forme ainsi ; ce sont des gouttelettes d'eau qui perlent à travers les stomates aquifères dès que la lumière commence à faiblir.

VII

Influence de la concentration des solutions nutritives sur le développement du maïs.

Nous voici maintenant fixés sur deux fonctions intéressantes qu'il était indispensable de bien connaître pour interpréter les résultats relatifs à la nutrition minérale des végétaux.

L'agriculture dispose d'engrais chimiques variés ; un élément nutritif comme l'azote, par exemple, se rencontre dans le commerce sous plusieurs états chimiques ; le nitrate de sodium et le sulfate d'ammonium sont les plus répandus. L'un et l'autre se valent, à condition de ne pas dépasser une concentration déterminée, qui est plus élevée pour le nitrate de sodium que pour le sulfate d'ammonium.

La limite optima de concentration pourrait être fixée pour chacun des aliments minéraux de la plante. Je n'ai pas abordé ce côté de la question pour la bonne raison que des recherches de cette nature exigent un nombre considérable d'années.

Je me suis borné à établir, en partant d'une solution déterminée, le degré de concentration de l'ensemble des éléments

le plus favorable au développement du maïs. Cette solution est la suivante :

Nitrate de sodium	0,6617
Sulfate d'ammonium	0,514
Phosphate de potassium neutre	1 »
Sulfate de magnésium + 7 aq	0,20
Sulfate ferreux + 7 aq	0,1
Chlorure de manganèse	0,05
Chlorure de zinc	0,05
Silicate de potassium	0,05
Carbonate de calcium :	2 »
Eau du robinet	1000 »

Elle présente la même composition que la solution S. P. avec cette différence que l'azote nitrique et ammoniacal y entrent en quantités égales, l'acide sulfurique et la soude des deux composés azotés en quantités équivalentes. J'appellerai P cette solution. Le 23 avril 1910 on met en expérience :

Série *a* 4 plants de maïs dans la solution P.

Série *b* 4 plants de maïs dans la solution $P \times 2$, c'est-à-dire 2 fois plus concentrée.

Série *c* 4 plants de maïs dans la solution $P \times 1/2$ diluée à la moitié.

Série *d* 4 plants de maïs dans la solution $P \times 1/4$ diluée au quart.

Les plantes de la série *a* n'ont pas évolué.

Celles de la série *b* non plus.

Celles de la série *c* se sont très bien développées.

Celle de la série *d* ont présenté sur la série *c* une légère avance pendant les 15 premiers jours; cette avance ne s'est pas maintenue parce que la solution $P \times 1/4$ placée dans des flacons de 3 litres seulement s'est appauvrie rapidement.

Les photographies 4, 5, 6, prises respectivement les 20 mai, 28 mai et 6 juin 1911, représentent fidèlement l'évolution de ces plantes; j'ai reproduit seulement deux plantes de la série *c*, deux plantes de la série *d* et une de la série *b*, afin de pouvoir mieux fixer leurs aspects; mais les quatre plantes qui composaient chacune des deux dernières séries s'étaient développées avec une régularité parfaite.

L'expérience n'a pas été poursuivie, car les flacons des séries *b* et *c* ne possédaient pas de tubulures latérales ni de siphons



PHOTO. 4.



PHOTO. 5.



PHOTO. 6.

permettant d'alimenter les plantes à mesure qu'elles épuisaient leurs solutions.

Mais elle établit nettement que la solution $P \times 1/4$ favorise les débuts du développement et provoque la formation d'un système racinaire très riche : la solution $P \times 1/2$ est également très bien adaptée aux exigences du maïs ; c'est à cette concentration que j'ai toujours donné la préférence par la suite, pour la bonne raison qu'elle permet d'introduire deux fois plus d'éléments nutritifs dans le même volume de solution.

VIII

Influence de l'état chimique des éléments minéraux azotés sur le développement du maïs.

À côté des séries de plantes placées dans les solutions $P \times 1$, $P \times 1/2$, $P \times 1/4$, j'ai disposé d'autre séries composées chacune de huit plantes dans le but d'étudier l'influence de l'état chimique des aliments azotés sur la nutrition du maïs.

J'ai utilisé la solution minérale suivante :

Phosphate tripotassique.	1 »
Sulfate de magnésium + 7 aq	0,20
Sulfate ferreux + 7 aq	0,1
Chlorure de Mn + 4 aq.	0,05
Chlorure de zinc	0,05
Silicate de potassium	0,05
Carbonate de calcium	2 »
Eau distillée pure.	1000 »

Cette solution est additionnée d'un des composés suivants :

1° Nitrate de sodium.	4,3235 p. 1000
2° Sulfate d'ammonium.	1,028 —
3° Nitrate d'ammonium.	0,623 —
4° Chlorure d'ammonium.	0,833 —

On obtient ainsi 4 séries de solution d'égale concentration en azote, et de même richesse que la solution $P \times 1$.

Les 8 plantes de chaque série étaient réparties à raison de 4 dans des flacons de 1 litre de capacité, et 4 dans des flacons de 3 litres.

Après ce que j'ai dit au sujet du développement du maïs dans la solution $P \times 1$, il semble que les résultats doivent être *a priori* identiques à ceux qui ont été enregistrés avec les plantes de cette solution. Il n'en est rien ; la différence tient nécessairement à ce fait que l'aliment azoté est unique ; on constate cependant que les plantes végètent péniblement dans ces solutions, et après une période plus ou moins longue de souffrance, suivant les pieds, la plupart des plants évoluent normalement ; cette irrégularité se maintient pendant toute la durée de la végétation, le retard reste acquis, et ce sont les pieds qui se développent le plus vite qui atteignent aussi les plus grandes dimensions.

Comme il s'agit surtout de mettre en évidence l'influence des composés indiqués sur l'évolution complète de la plante jusqu'à la maturation des graines, j'ai pris les quatre pieds les plus beaux de leurs séries respectives, et je les ai alimentés à discrétion en leur fournissant la solution suivante additionnée d'un des 4 composés azotés, mais en prenant la précaution de réduire la concentration de moitié.

Phosphate tripotassique	0,5
Sulfate de magnésium	0,1
Eau distillée pure	1000 »

Les plantes étaient donc placées dans des conditions aussi identiques que possible, et les différences qu'elles ont accusées au cours de l'expérience ne peuvent être rapportées qu'à l'influence de l'aliment azoté ou, plus exactement, à la nature de l'élément résiduel qu'il laisse dans la sève.

La photographie	7	prise	le 20 mai 1910,
Id.	8	—	le 28 mai —
Id.	9	—	le 6 juin —
Id.	10	—	le 14 juin —
Id.	11	—	le 22 juin —
Id.	12	—	le 11 juill. —

permettent de se faire une idée exacte de la marche de la végétation.

Dans les trois premières, 7, 8, 9, j'ai fait figurer une des plantes de la série $P \times 1/4$ qui est reproduite également dans les photographies 4, 5, 6, p. 721. On peut ainsi se rendre



PHOTO. 7.

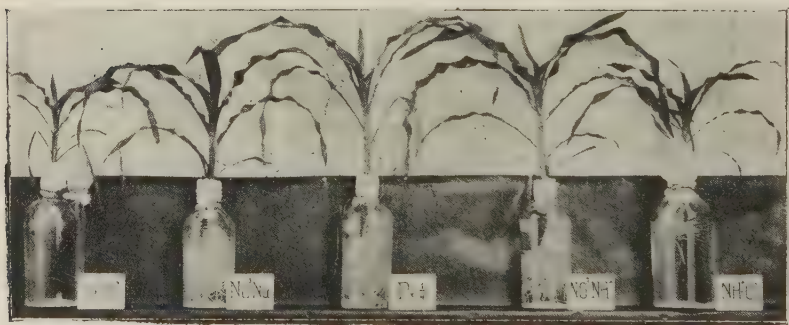


PHOTO. 8.



PHOTO. 9.

compte de l'avance qu'ont prise les plantes des séries $P \times 1/2$ et $P \times 1/4$ sur celles des quatre séries précédentes, bien qu'elles aient été mises en expérience le même jour.

Les photographies 7, 8 et 9 nous révèlent des faits curieux que j'ai, d'ailleurs, signalés depuis longtemps (1). Les organes aériens des diverses plantes ne dénotent rien de bien saillant, mais les racines offrent des aspects significatifs. Dans la solution $P \times 1/4$ le système racinaire est très riche ; il en est de même dans le nitrate de sodium. Les sels ammoniacaux exercent, au contraire, une influence défavorable sur le développement des racines, mais leur action pernicieuse se fait moins sentir dans le nitrate d'ammonium : c'est donc surtout au résidu acide qu'il faut attribuer ce résultat ; cette conclusion m'avait échappé dans mes premières recherches (*loc. cit.*), parce que j'avais admis, avec mes devanciers, que le carbonate de calcium en excès assurait la neutralité de la solution.

Un résultat plus imprévu, c'est le développement à peu près régulier d'organes aériens alimentés à travers des surfaces racinaires très inégales dans des solutions d'égale richesse. Il y a, dans ce fait, une preuve matérielle visible de la propriété que possèdent les racines d'absorber les substances solubles d'une liqueur nutritive plus vite que l'eau qui la compose.

Les racines prennent un aspect plus normal à mesure que les plantes avancent en âge ; mais elles restent toujours moins abondantes que celles des pieds qui se développent dans les solutions pourvues de nitrate de sodium.

Un résultat très net également, c'est le retard qu'accuse la végétation des pieds placés dans le sulfate et le chlorure d'ammonium ; mais cela ne veut pas dire que la récolte en soit affectée, comme on peut le voir déjà dans la photographie 12. Les épis femelles de la plante alimentée avec le nitrate de sodium sont stériles ; il en est de même de ceux qui se sont développés aux dépens du sulfate d'ammonium ; le nitrate et le chlorure d'ammonium ont donné des épis normaux avec des graines bien développées.

(1) P. MAZÉ, Recherches sur l'influence de l'azote nitrique et de l'azote ammoniacal sur le développement du maïs. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1900, p. 26.



PHOTO. 10.



PHOTO. 11.



PHOTO. 12.

J'ai réuni dans le tableau III les résultats qui nous intéressent pour le moment.

TABLEAU III

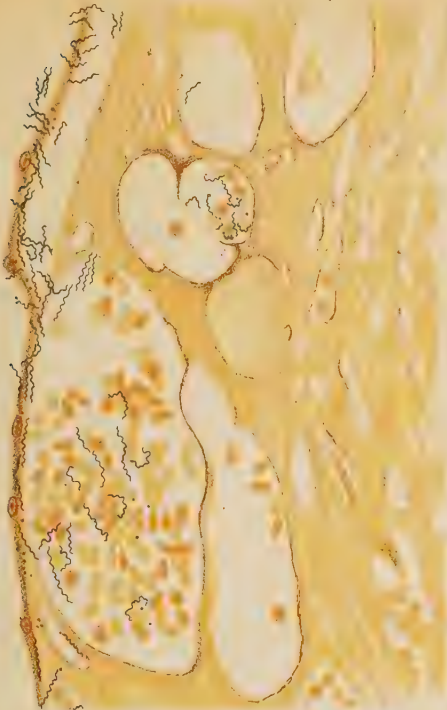
NATURE de l'aliment azoté.	POIDS SEC de la plante.	NOMBRE d'épis femelles.	ÉPIS AVORTÉS	ÉPIS FERTILES	NOMBRE de graines normales.
$\text{AzO}^3 \text{Na}$	48,50 gr.	2	2	0	0
$\text{So}^4 (\text{AzH}^3)^2$	50,34 gr.	3	3	0	0
$\text{AzO}^3 \text{AzH}^4$	69,92 gr.	2	1	1	100
$\text{AzH}^4 \text{Cl}$	70 » gr.	2	1	1	170

Ces résultats étaient prévus; la soude et les acides résiduels ont gêné la végétation puisqu'ils s'accumulent dans la sève ou dans la solution nutritive où ils sont repris à nouveau par la sève.

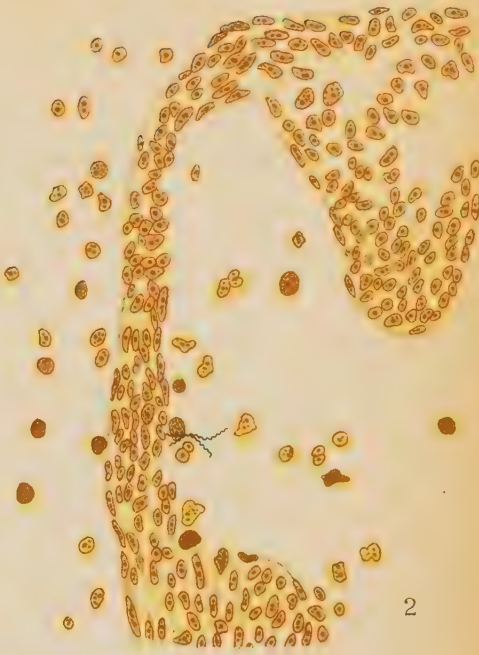
La plante se trouve ainsi placée dans une sorte de cercle vicieux ; il lui reste, cependant, un moyen de lutter contre ces conditions défectueuses, c'est d'éliminer les éléments inutilisables par les feuilles ; elle n'y parvient pas au point de triompher de l'obstacle qu'on lui oppose.

Le chlorure d'ammonium fait exception à la règle ; c'est un résultat qui reste à expliquer ; le nitrate d'ammonium absorbable sans résidu a donné le résultat escompté.

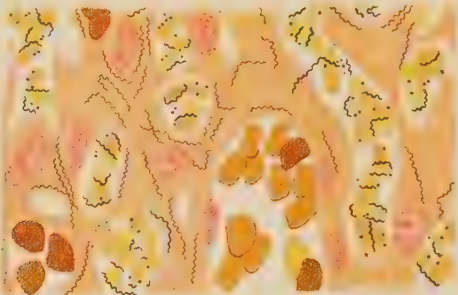
On verra, enfin, jusqu'à quel point ces conclusions relatives aux conditions dans lesquelles on a opéré pourront être considérées comme définitives ; rien ne permet de les étendre, par généralisation, à des plantes cultivées dans des solutions nutritives moins concentrées.



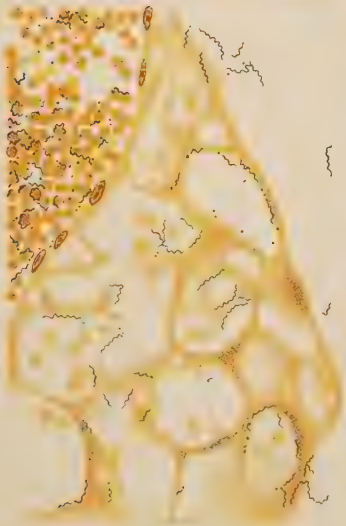
1



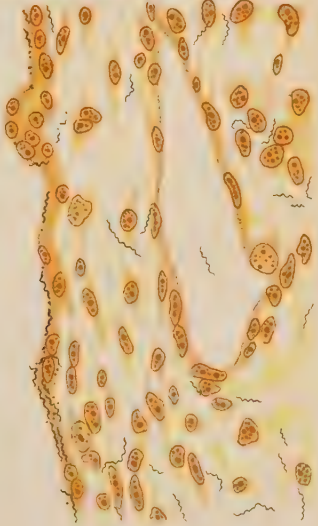
2



3



4



L'HÉRÉDO-CONTAGION DES SPIRILLOSES

par L. NATTAN-LARRIER

(Avec la Pl. VIII)

(Travail des laboratoires de M. Metchnikoff et de M. Laveran.)

Dès 1906, Breinl et Kinghorn entreprenaient des recherches expérimentales sur l'hérédo-contagion des spirilloSES et croyaient pouvoir établir que les parasites passaient constamment du sang de la mère dans celui du fœtus. A notre tour, nous nous sommes demandé si les spirilles pénétraient dans l'organisme fœtal; puis nous avons étudié, par la méthode des imprégnations, le mécanisme de la migration transplacentaire des parasites; enfin nous avons consacré plusieurs expériences à la question de l'immunisation héréditaire des petits. Cette série de travaux a, sur quelques points, abouti à des conclusions sensiblement différentes de celles de Breinl et Kinghorn.

*
* *

Breinl et Kinghorn avaient toujours pu déceler l'hérédo-contagion spirillaire par l'examen direct du sang fœtal. Cette technique entre nos mains, au contraire, s'est montrée constamment insuffisante; aussi avons-nous dû recourir à d'autres méthodes.

L'examen des *coupes histologiques* de l'embryon, imprégné en totalité par la méthode argentique, nous a semblé le procédé de choix, lorsque la gestation datait de *moins de huit jours*: il est, en effet, impossible de prélever le sang d'aussi petits embryons pour en pratiquer l'inoculation :

Exp. I. — Une femelle de rat, au huitième jour environ de la gestation, est sacrifiée trois jours après l'inoculation du *spirille d'Obermeier* (spirilles extrêmement nombreux). Les coupes histologiques des fœtus permettent de retrouver, sans peine, des spirilles répartis soit dans les tissus, soit dans la cavité générale de l'embryon.

Exp. II. — Une femelle de rat, au huitième jour de la gestation, est sacrifiée trois jours après l'inoculation du *spirille de Dutton* (spirilles nombreux). Les coupes histologiques permettent de retrouver d'abondants spirilles, affectant la même répartition que dans l'expérience précédente.

La facilité avec laquelle nous avons pu retrouver les spirilles sur les coupes histologiques, dans ces deux cas, démontre qu'*au début de la gestation* l'hérédo-contagion spirillaire s'effectue d'une manière massive. C'est, au contraire, un envahissement discret que l'on observe lorsque l'hérédo-contagion se réalise pendant *la dernière période de la gestation*; aussi est-il, alors, nécessaire de suivre une autre technique : la femelle de rat, près de mettre bas, est sacrifiée dès que l'infection devient intense; on recueille avec grand soin le sang du cœur de deux fœtus et on l'injecte, sans le défibriner, à un rat nouveau-né ou à une souris de moins de 10 grammes. Neuf expériences ont été faites en suivant cette méthode; nous en résumerons le protocole et les résultats.

Exp. 1. — Le sang de deux fœtus est recueilli trois jours après l'inoculation de la femelle, au moment où les spirilles (*spirille de Dutton*) sont très nombreux; l'inoculation est faite à un rat nouveau-né; résultat positif.

Exp. 2. — Le sang de deux fœtus est recueilli trois jours après l'inoculation de la femelle, au moment où les spirilles sont assez nombreux; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat négatif.

Exp. 3. — Le sang de deux fœtus est recueilli cinq jours après l'inoculation, au moment où les spirilles sont très, très nombreux; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat négatif.

Exp. 4. — Le sang de deux fœtus est recueilli trois jours après l'inoculation, au moment où le sang de la femelle contient des spirilles nombreux; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat positif.

Exp. 5. — Le sang de deux fœtus est recueilli deux jours après l'inoculation, au moment où le sang de la mère contient de nombreux spirilles; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat positif.

Exp. 6. — Le sang de deux fœtus est recueilli au moment de la mise bas, trois jours après l'inoculation de la mère, alors que le sang maternel contient d'innombrables spirilles; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat positif.

Exp. 7. — Le sang de deux fœtus est recueilli au moment de la mise bas, trente-six heures après l'inoculation, au moment où le sang maternel contient des spirilles non rares; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat positif.

Exp. 8. — Le sang de deux fœtus est recueilli cinq jours après l'inoculation, au moment où les spirilles sont nombreux; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat positif.

Exp. 9. — Le sang de deux fœtus est recueilli quatre jours après l'inoculation, au moment où les spirilles sont nombreux; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat positif.

Sur *neuf expériences*, exécutées en suivant constamment la même technique, nous avons donc obtenu *sept résultats positifs*. Dans ces sept cas, l'infection maternelle datait une fois d'un

jour, trois fois de trois jours, une fois de quatre jours, deux fois de cinq jours. Les spirilles que contenait le sang de la mère étaient, dans les sept cas positifs, une fois non rares, trois fois nombreux, quatre fois très nombreux, une fois innombrables. Dans les deux cas négatifs, rien ne permettait d'expliquer l'absence d'hérédo-contagion : la durée et l'intensité de l'infection maternelle avaient été, en effet, les mêmes que dans les cas positifs.

Ce n'est pas seulement dans le sang des fœtus qu'il nous a été possible de retrouver les spirilles, nous les avons également décelés dans la pulpe hépatique et la pulpe splénique (1) :

Exp. 1. — Après une saignée aussi complète que possible de deux fœtus, leur rate et un lobe de leur foie sont broyés et émulsionnés dans de l'eau physiologique; trois petites souris sont inoculées; une seule d'entre elles est contaminée.

Exp. 4. — La pulpe hépatique et la pulpe splénique de deux fœtus sont préparées et inoculées suivant la même technique; deux petites souris sont inoculées; les deux résultats sont positifs.

Exp. 5. — La pulpe splénique et la pulpe hépatique de deux fœtus sont préparées suivant la même technique; une petite souris est inoculée; résultat positif.

Exp. 6. — La pulpe splénique et la pulpe hépatique sont préparées suivant la même technique; l'inoculation est faite à une petite souris; résultat positif.

Exp. 7, 8 et 9. — La pulpe hépatique est seule recueillie, elle est préparée comme ci-dessus; l'inoculation est faite à de petites souris et, dans ces trois cas, les résultats sont positifs.

Pour étudier de plus près l'infection spirillaire héréditaire, dans une deuxième série d'expériences nous suivîmes une autre technique, et nous pratiquâmes nos inoculations d'épreuve sur des rats de poids moyen :

Exp. 1. — Une femelle inoculée dans le péritoine avec la spirille d'Obermeier met bas le troisième jour de l'infection. Le sang d'un petit est passé aussitôt à un rat de poids moyen; résultat positif le sixième jour; l'infection reste d'intensité modérée. Le sang d'un second petit, séparé de la mère à la

(1) Dans toute cette dernière série d'expériences, quoique nous ayons toujours saigné aussi complètement que possible les fœtus avant de prélever les organes, une petite quantité de sang se trouvait, sans aucun doute, mélangée à l'émulsion des tissus hépatiques ou spléniques; nous ne pensons pas, néanmoins, que cette contamination rende nos résultats critiquables, car les émulsions de foie et de rate étaient très pauvres en globules rouges. Nos expériences sont, d'ailleurs, d'accord ici avec celles de Breinl et Kinghorn, qui décelèrent toujours des spirilles sur les frottis de la rate des fœtus.

naissance, est, quatre jours après la mise bas, inoculé à un rat de poids moyen ; résultat négatif.

Exp. 2. — Une femelle est sacrifiée au deuxième jour de l'infection, au moment où le sang contient des spirilles nombreux. Le sang de deux fœtus, presque à terme, est inoculé dans le péritoine d'un rat de poids moyen ; résultat négatif.

Exp. 3. — Une femelle met bas deux jours après l'inoculation, au moment où le sang contient des spirilles très nombreux. Le sang de deux petits est inoculé deux jours plus tard dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen (les petits avant cette inoculation avaient été séparés de la mère) ; résultat positif au bout de quatre jours. Vingt-quatre heures plus tard, le sang d'un troisième petit est inoculé à un rat adulte ; résultat positif au bout de trois jours.

Exp. 4. — Une femelle est sacrifiée deux jours après l'inoculation, au moment où son sang contient des spirilles très nombreux. Le sang de deux fœtus est inoculé aussitôt dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen ; résultat positif au bout de six jours.

Exp. 5. — Une femelle, pleine de quinze jours environ, est sacrifiée au cinquième jour de l'infection, au moment où le sang contient des spirilles très nombreux. Le sang de deux fœtus est inoculé dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen ; résultat négatif.

Exp. 6. — Une femelle, proche du terme, est sacrifiée deux jours après l'inoculation, au moment où son sang contient des spirilles assez nombreux. Le sang de deux fœtus est inoculé dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen ; résultat négatif.

Exp. 7. — Une femelle, proche du terme, est sacrifiée trois jours après l'inoculation, au moment où son sang contient des spirilles très nombreux. Le sang de deux fœtus est inoculé dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen ; résultat négatif.

Exp. 8. — Une femelle, à terme, met bas quarante-huit heures après l'inoculation, au moment où son sang contient des spirilles nombreux. Le sang de trois fœtus est inoculé aussitôt dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen ; résultat négatif. D'autre part, trois petits sont séparés, dès la naissance, de leur mère, et mis à l'étuve ; après vingt-quatre heures, le sang de ces trois petits est inoculé dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen ; résultat négatif.

Exp. 9. — Une femelle, proche du terme, est sacrifiée au troisième jour de l'infection, au moment où son sang contient des spirilles très nombreux. Le sang de deux fœtus est inoculé dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen ; résultat négatif.

Exp. 10. — Une femelle, à terme, met bas quarante-huit heures après l'inoculation, au moment où son sang contient des spirilles nombreux. Douze heures après la naissance, le sang de deux petits est inoculé dans le péritoine d'un rat adulte de poids moyen ; résultat négatif.

En résumé, dans ces dix dernières expériences, nous avons inoculé le sang de 25 fœtus ou nouveau-nés à 13 rats adultes et nous n'avons obtenu sur ces treize inoculations que trois résultats positifs. Dans la plupart des cas, l'inoculation du sang fœtal ne parvenait donc pas à contaminer un rat de poids moyen ; la

transmission héréditaire des spirilles étant établie par les expériences de la première série, nous devons nous demander si le pouvoir pathogène des parasites, qui étaient entrés en contact prolongé avec le tissu placentaire, n'était pas atténué? Pour discuter cette hypothèse, nous eûmes recours à deux séries d'expériences.

Dans une *première expérience* nous avons, avant de l'inoculer, laissé un sang riche en spirilles au contact d'un extrait placentaire :

Exp. 1. — Cinq placentas de souris à terme sont broyés, desséchés au dessiccateur, dans le vide, pendant quarante-huit heures ; la masse ainsi obtenue est réduite en poudre et mélangée à de l'eau physiologique, dans la proportion de 10 centigrammes de placenta pour 1 centimètre cube et demi d'eau physiologique. Cette émulsion est laissée à l'étuve à 38 degrés pendant quatre heures et mise à la glacière pendant vingt-quatre heures. L'extrait placentaire est centrifugé, décanté et, à 0 c. c. 4 du liquide ainsi obtenu, on ajoute deux gouttes de sang riche en spirilles ; ce mélange est laissé à la température du laboratoire pendant trente minutes, puis inoculé dans le péritoine d'un rat : l'inoculation est positive au bout de quarante-huit heures. Le culot résultant de la centrifugation de l'extrait placentaire est mélangé à deux gouttes de sang infecté et inoculé dans le péritoine d'un rat adulte ; résultat positif en quarante-huit heures, comme dans l'expérience précédente. Un extrait de sang de souris préparé comme l'extrait placentaire est centrifugé ; on le décante et on ajoute à 0 c. c. 4 du liquide ainsi obtenu deux gouttes du même sang riche en spirilles ; ce mélange est laissé à la température du laboratoire pendant trente minutes, puis inoculé dans le péritoine d'un rat : l'inoculation est positive au bout de quarante-huit heures. On mélange deux gouttes du même sang infecté à 0 c. c. 4 d'eau physiologique ; ce mélange est laissé à la température du laboratoire pendant trente minutes, puis inoculé dans le péritoine d'un rat : l'inoculation est positive au bout de quarante-huit heures.

L'infection spirillaire se comporta donc de même chez les quatre animaux inoculés et l'extrait placentaire ne parut posséder aucune action sur les spirilles (1)

Dans une *deuxième expérience*, nous nous sommes contentés d'inoculer au rat l'émulsion d'un placenta riche en spirilles :

Exp. 2. — Une femelle pleine de huit jours environ est inoculée à forte dose ; l'examen du sang est positif au deuxième jour, les spirilles sont innombrables au sixième jour, la crise se produit au septième jour ; le sang à ce moment ne contient plus de spirilles à l'examen direct, quoiqu'une forte inoculation faite à un petit animal soit encore positive. Deux placentas sont broyés et l'émulsion ainsi obtenue est inoculée à deux petites

(1) Ajoutons qu'au bout d'une heure les spirilles conservaient encore toute leur mobilité dans le sang mélangé à l'extrait placentaire.

souris de moins de 10 grammes; les deux inoculations sont positives au bout de quarante-huit heures.

Exp. 3. — Une femelle, pleine de huit jours environ, est inoculée à forte dose; l'examen du sang est positif au deuxième jour, les spirilles sont très nombreux au cinquième jour, rares au sixième; la crise se produit au septième jour; le sang à ce moment ne contient plus de spirilles à l'examen direct, quoiqu'une forte inoculation faite à une petite souris soit encore positive. Deux placentas sont broyés et l'émulsion ainsi obtenue est inoculée à deux petites souris de moins de 10 grammes; les deux inoculations sont positives au bout de quarante-huit heures.

Les spirilles ne perdent donc leur virulence ni au contact d'un extrait placentaire, ni par un mélange avec la pulpe fraîche du placenta. La faible virulence du sang fœtal est due non à l'atténuation du pouvoir pathogène des spirilles, mais au petit nombre des parasites qui franchissent le placenta (1).

*
* *

Le mécanisme de la contagion transplacentaire est encore incomplètement étudié. Les recherches déjà anciennes de Malvoz tendaient à démontrer que, du moins, pour les bactéries, l'existence de lésions placentaires étendues était nécessaire pour que les germes pathogènes puissent passer de la mère au fœtus. Nous-même, nous avons signalé, avec Brindeau, l'importance du rôle des ruptures vasculaires, des migrations leucocytaires et des nécroses plasmodiales si fréquentes dans le placenta humain. Par contre, quoique les placentas syphilitiques soient toujours profondément altérés, les études de Nattan-Larrier et Brindeau, de Levaditi et Sauvage démontrent que le *spirochæte pallida* pénètre à travers des éléments ectodermiques dont l'intégrité apparente est incontestable. En est-il de même pour le spirille de la fièvre récurrente? Sur plus de 40 examens de placentas de femelles infectées, nous n'avons constaté que dans deux cas des nécroses insulaires du plasmode

(1) En faveur de notre opinion nous trouvons encore une série d'arguments : 1° l'examen du sang fœtal, soit à l'état frais, soit après coloration nous a toujours paru négatif (dix-neuf expériences); 2° lorsqu'on laisse vivre les petits d'une mère infectée, en les faisant allaiter par une femelle normale pour éviter toute cause d'erreur, l'infection spirillaire n'éclate que tardivement et reste bénigne; 3° les infections spirillaires déterminées par l'inoculation du sang fœtal ont toujours été très faibles (longue durée d'incubation, faible quantité de spirilles dans le sang, crise au bout de vingt-quatre ou quarante huit-heures).

avec thrombose des lacunes sanguin-maternelles et des capillaires fœtaux adjacents. On ne saurait donc admettre qu'une lésion du placenta soit indispensable pour que l'hérédo-contagion spirillaire puisse se réaliser. Mais il reste alors à établir comment les spirilles peuvent traverser les éléments cellulaires (plasmode, mésoderme, cellules endothéliales), qui forment une barrière continue entre le système circulatoire de la mère et celui du fœtus. Nous y sommes parvenus en imprégnant le tissu placentaire par la méthode de l'argent-pyridine (réduction par pyridine, acide pyrogallique, acétone); cette technique nous a fourni d'excellents résultats et nous a permis de suivre le passage des spirilles du sang de la mère jusque dans le système circulatoire du fœtus.

Avant de résumer les résultats de ces études histologiques, nous décrirons sommairement la structure du placenta et des membranes, au début et à la fin de la gestation (*type rat-souris*); on comprendra ainsi plus facilement comment peut se faire la transmission des agents pathogènes.

Au début de la gestation, dans ses quinze premiers jours, le placenta est formé par la juxtaposition d'une masse ectodermique irriguée par le sang maternel et d'un cône allantoidien, parcouru par des vaisseaux fœtaux. La masse ectoplacentaire présente une structure variable, suivant le niveau auquel on l'examine; mais, que ses éléments se présentent sous l'aspect de petites cellules, d'un plasmode ou de cellules géantes, elle est toujours creusée de larges mailles où le sang maternel circule librement. Le cône allantoidien est formé d'un tissu mésodermique mucoïde que traversent des vaisseaux où arrive le sang fœtal. La cavité des sinus maternels est donc séparée de la lumière des capillaires fœtaux par une couche souvent épaisse de tissu ectoplacentaire, par le mésoderme du cône allantoidien et enfin par l'endothélium de la paroi vasculaire fœtale. Bientôt, il est vrai, les vaisseaux allantoidiens viendront bourgeonner dans l'ectoplacenta et y formeront un réseau constitué par une simple paroi endothéliale adossée au plasmode; dès lors, des rapports plus directs s'établiront entre la circulation maternelle et la circulation fœtale : le sang du fœtus ne sera plus séparé du sang maternel que par une épaisse bande plasmodiale et par un mince endothélium (Mathias Duval).

La structure des *membranes* à ce stade de la gestation n'est pas moins facile à définir. La vésicule ombilicale, dont le bord vient s'adosser au cône allantoïdien, forme leur portion principale. Sur les parties latérales de l'œuf, la vésicule ombilicale est recouverte, de dehors en dedans, par la caduque réfléchie, par une couche lacunaire formée de cellules géantes ectoplacentaires et par une mince cuticule ectodermique; l'endoderme distal de la vésicule ombilicale s'y adosse et limite la cavité de la vésicule ombilicale que borne, d'autre part, l'endoderme proximal, au-dessous duquel se trouvent les vaisseaux omphalomésentériques. Le sang maternel, issu des sinus de la caduque réfléchie, circule dans l'intervalle des cellules géantes ectoplacentaires et n'est séparé du sang fœtal des vaisseaux omphalomésentériques que par les couches suivantes : une assise irrégulière de grosses cellules ectoplacentaires, la très mince cuticule ectodermique, irrégulièrement revêtue des petits éléments (endoderme distal), l'étroite cavité de la vésicule ombilicale et les cellules cubiques de l'endoderme proximal.

A la fin de la gestation la structure du *placenta* s'est entièrement modifiée. Sa masse principale est constituée par le tissu ectoplacentaire qui s'est transformé en une couche spongieuse où les vaisseaux fœtaux avoisinent les fins sinus maternels. Le tissu allantoïdien ne forme plus qu'un étroit disque dont le tissu mésodermique entoure les ramifications des vaisseaux ombilicaux. Dans la partie spongieuse du placenta, les rapports entre la circulation maternelle et la circulation fœtale sont intimes : l'endothélium du capillaire fœtal n'est revêtu que d'une mince couche plasmodiale qui forme la paroi même du système vasculaire maternel; ultérieurement même, cette couche plasmodiale s'atrophiera et, dans les derniers jours de la gestation, elle ne sera plus représentée que par ses noyaux environnés çà et là d'une mince couche protoplasmique (Mathias Duval); sur la plupart des points, l'endothélium du capillaire fœtal séparera seul le sang fœtal du sang maternel. C'est donc dans la portion spongieuse du placenta que les rapports entre le système circulatoire fœtal et les sinus maternels seront le plus intimes : en effet, au niveau du disque allantoïdien, une couche de mésoderme s'intercalera entre les deux systèmes et, aux confins de cette région, on verra même sur certains points un diverticule

de la vésicule ombilicale s'insinuer dans le tissu placentaire pour former une véritable séreuse qui isolera les gros vaisseaux du fœtus des sinus sanguins maternels.

La disposition des *membranes* s'est entièrement transformée. Nous avons vu qu'au début de la grossesse les couches superficielles de l'œuf étaient constituées par la caduque réfléchie que revêtait la cuticule ectodermique et l'endoderme distal; ce dernier limitait la cavité de la vésicule ombilicale formée sur son autre paroi de l'endoderme proximal que doublait le mésoderme sillonné des vaisseaux omphalo-mésentériques. A la fin de la gestation, la caduque réfléchie, doublée de la cuticule ectodermique et de l'endoderme distal, s'est rompue et rétractée. C'est alors l'endoderme proximal qui forme la paroi la plus externe de l'œuf : il entre en contact sur ses parties latérales avec la muqueuse utérine et il en reste séparé par un étroit espace qui se continue avec les diverticules intra-placentaires de la vésicule ombilicale (Mathias Duval).

Répartition des spirilles dans le placenta au début de la gestation. — Les spirilles flottent en nombre considérable dans les lacunes maternelles de l'ecto-placenta; on constate également leur présence dans les sinus sanguins qui parsèment toute l'épaisseur de la couche plasmodiale réticulée. Les bonnes imprégnations permettent de déceler encore les parasites dans le protoplasma même des cellules plasmodiales de la masse ectoplacentaire et dans le tissu ectoplacentaire sous-jacent. On ne trouve que de rares spirilles dans le tissu mésodermique de l'allantoïde placentaire; on ne voit pénétrer aucun parasite dans la lumière des vaisseaux allantoïdiens.

Au niveau des membranes, les spirilles flottent en grand nombre dans les sinus intercalés entre les cellules ectodermiques géantes qui doublent la caduque réfléchie. Les parasites pénètrent dans le protoplasma même de ces éléments, parviennent ainsi à la cuticule ectodermique, la traversent en grand nombre, cheminent dans le protoplasma des cellules de l'endoderme distal (pl. VIII, fig. 1 et 2), tombent dans la cavité de la vésicule ombilicale et s'insinuent enfin à travers l'endoderme proximal (fig. 1) : on les voit cheminer dans l'intervalle de ses hautes cellules prismatiques et traverser leur masse protoplasmique. Le mésoderme sous-jacent est parsemé d'innombrables

spirilles qui se disposent entre ses travées mucoïdes. Enfin, sur les coupes les plus heureuses, on voit des spirilles flotter dans la cavité même des vaisseaux omphalo-mésentériques. A ce stade du développement, les spirilles paraissent donc surtout se propager en pénétrant dans la cavité de la vésicule ombilicale et en s'insinuant dans les vaisseaux omphalo-mésentériques (pl. I, fig. 4).

Répartition des spirilles dans le placenta à la fin de la gestation. — Dans toute l'étendue de la région spongieuse du placenta, il est facile de suivre la migration des spirilles, des vaisseaux maternels jusqu'aux capillaires fœtaux. Dans les lacunes sanguimaternelles, on observe toujours aisément quelques spirilles qui se disposent perpendiculairement à la paroi vasculaire; sur les coupes les plus heureuses on voit même une de leurs extrémités cheminer dans le plasmode, tandis que l'autre reste encore flottante dans le sang maternel; ces figures

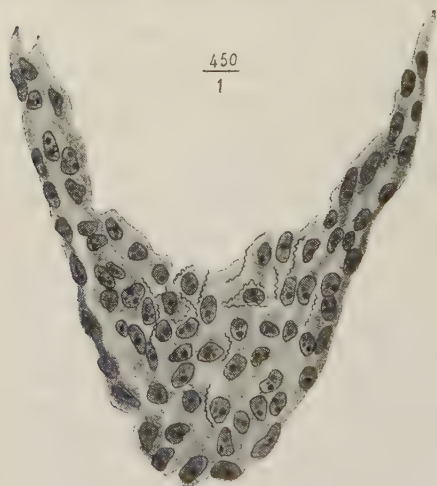


FIG. 1. — Pénétration des spirilles à travers l'endoderme proximal (coupe oblique).

sont d'autant plus frappantes que la portion intra-plasmodiale des spirilles s'imprègne moins fortement par l'argent que leur portion intravasculaire. Le nombre des spirilles qui s'insinuent ainsi dans le tissu plasmodial est extrêmement considérable et, sur certains points, les parasites y peuvent former un véritable chevelu. Poursuivant leur trajet, les spirilles viennent enfin se ranger le long de la paroi endothéliale des capillaires fœtaux (pl. I, fig. 3). Il semble évident qu'ils pénètrent dans le courant circulatoire des vaisseaux sanguins du fœtus, mais cette migration doit être très discrète, car nous n'avons jamais pu en observer les dernières phases.

Au niveau de l'insertion du cordon, quelques rares spirilles

se glissent toujours dans le tissu mésodermique. A la surface du disque placentaire on rencontre toujours des spirilles dans l'épaisseur de la cuticule ectodermique ou même dans le protoplasma de l'endoderme distal.

Nous n'avons jamais vu les spirilles traverser l'endoderme proximal dans les régions où les diverticules de la vésicule ombilicale forment une sorte de séreuse intraplacentaire au pourtour des gros vaisseaux fœtaux. On concevrait facilement que les spirilles puissent, en s'échappant du tissu placentaire ou de la surface utérine, tomber dans la cavité utérine et entrer en contact avec l'endoderme proximal; mais quelle que soit la vraisemblance d'un pareil processus, nous n'avons jamais pu en constater la réalisation. Nous pensons donc qu'au cours des derniers moments de la gestation, l'hérédo-contagion spirillaire est due surtout à la migration transplasmodiale des spirilles, qui passent, au niveau de la portion spongieuse du placenta, des lacunes sanguines maternelles dans les capillaires fœtaux.

*
* *

Nous avons, dans le chapitre précédent, étudié le passage des spirilles de la mère au fœtus au moment de l'infection maxima; il nous a d'autre part semblé intéressant de savoir comment se comportait l'hérédo-contagion au moment où se réalise la *crise*. Nous avons consacré deux expériences à l'étude de cette question.

EXP. 1. — Une femelle, au début de la gestation, est inoculée à dose assez forte. Les spirilles sont innombrables les cinquième et sixième jours après l'inoculation; le septième jour, la crise se produit et, douze heures plus tard, la femelle avorte. On pratique des inoculations comparatives avec le sang de la mère, le broyage du foie et de la rate de la mère, le broyage du placenta, le sang de trois fœtus, le broyage du foie de trois petits. L'inoculation du sang de la mère détermine l'infection au onzième jour et l'infection reste extrêmement légère; le broyage du foie maternel donne une infection légère au cinquième jour; le broyage de la rate donne une infection légère au troisième jour. L'inoculation du sang du fœtus donne une infection extrêmement légère au onzième jour; le broyage du foie du fœtus donne une infection très légère au quatrième et au cinquième jour; le broyage du placenta donne dans deux cas une infection assez forte dès le second jour.

EXP. 2. — Une femelle au début de la gestation est inoculée à dose assez forte. Les spirilles sont très nombreux au quatrième jour. La crise se produit le sixième jour, la femelle est sacrifiée le septième jour. On pratique des

inoculations comparatives avec le sang de la mère, le broyage du foie et de la rate de la mère, le sang de trois fœtus, le broyage des organes de trois petits. L'inoculation du sang de la mère détermine l'infection au quatrième jour; cette infection reste extrêmement légère; le broyage du foie maternel donne une infection très légère au sixième jour; le broyage de la rate donne une infection légère au troisième jour. L'inoculation du sang du fœtus reste négative dans un cas et dans un autre cas donne une infection extrêmement légère au huitième jour; l'émulsion du foie du fœtus donne un résultat négatif dans un cas, une infection extrêmement légère dans un autre cas, au dixième jour; l'émulsion du placenta donne au troisième jour une infection forte.

De ces expériences, il est facile de tirer des conclusions précises. Au moment de la crise, le placenta est plus riche en spirilles que le sang ou les organes de la mère ou des fœtus. Au moment de la crise, les spirilles, extrêmement rares dans le sang maternel, le sont plus encore dans le sang fœtal. Chez le fœtus, comme chez la mère, les spirilles, au moment de la crise, paraissent être plus nombreux dans les organes que dans le sang circulant.

L'examen des coupes histologiques a, d'ailleurs, confirmé et précisé un point de ces expériences. Nous venons de voir que le broyage du placenta fournissait une émulsion dont l'inoculation déterminait une spirillose grave, à marche rapide; l'examen des coupes imprégnées par l'argent démontre également qu'il est toujours facile, au moment de la crise, de retrouver un grand nombre de spirilles inclus dans le protoplasma plasmodial de la zone réticulée du placenta.

*
* *

Dans une dernière série d'expériences nous avons recherché si les petits nés d'une femelle atteinte de spirillose possédaient une *immunité congénitale* contre cette affection. Sept de nos expériences se rapportent à des cas où la femelle fut inoculée dans la deuxième période de la gestation :

Exp. 1. — Une femelle met bas trois jours après l'inoculation (spirilles assez nombreux); deux petits sont inoculés vingt-quatre heures plus tard; l'infection commence après vingt-quatre heures, infection forte.

Exp. 2. — Une femelle met bas trois jours après l'inoculation (spirilles assez nombreux); deux petits sont inoculés vingt-quatre heures plus tard;

l'infection commence pour l'un d'eux après quatre jours, pour l'autre après six jours, infection forte.

Exp. 3. — Une femelle met bas trois jours après l'inoculation (spirilles non rares); un petit est inoculé deux jours plus tard; l'infection commence après quarante-huit heures, infection légère.

Exp. 4. — Une femelle met bas trois jours après l'inoculation (spirilles innombrables); un petit est inoculé cinq jours plus tard; l'infection commence après vingt-quatre heures, infection forte.

Exp. 5. — Une femelle met bas deux jours après l'inoculation (spirilles assez nombreux); deux petits sont inoculés cinq jours plus tard; l'infection commence après vingt-quatre heures, infection très forte.

Exp. 6. — Une femelle met bas trois jours après l'inoculation (spirilles assez nombreux); un petit est inoculé cinq jours plus tard; l'infection commence après quarante-huit heures, infection très forte.

Exp. 7. — Une femelle met bas quarante-huit heures après l'inoculation (spirilles nombreux); un petit est inoculé douze jours plus tard; l'infection commence après quarante-huit heures, infection très forte.

Dans ces sept expériences, la spirillose maternelle ne détermine donc pas l'*immunité congénitale* des petits; cependant, dans six de ces sept cas, nous avons pu démontrer que les spirilles maternels avaient pénétré dans l'organisme fœtal. Ces faits s'expliquent facilement : au moment où nous inoculons les rats nouveau-nés, les rares spirilles qui avaient traversé le tissu placentaire n'avaient pas encore provoqué l'infection des petits; l'immunité active ne pouvait donc encore être acquise. Seule, une immunité passive aurait pu être produite par le passage d'anticorps à travers le placenta. Nos expériences démontrent précisément qu'un semblable fait ne se réalise pas. Par contre, lorsqu'on laisse vivre les petits, l'infection spirillaire évolue chez eux et, après un temps plus ou moins long, ils acquièrent parfois une immunité active : il en fut ainsi dans deux de nos expériences. Toutefois, lorsque l'infection spirillaire congénitale est très peu intense, elle peut soit ne pas évoluer, soit ne point conférer une immunité active aux petits : il en était ainsi dans deux des expériences de Breinl.

Lorsque l'inoculation d'une femelle est faite au début même de la gestation les faits se présentent bien différemment :

Exp. 8. — Une femelle met bas seize jours après l'inoculation, treize jours après le début de la première crise. Dès le jour de la mise bas, un petit est inoculé, l'infection spirillaire ne se réalise pas.

Dans ce cas, l'infection maternelle survenant dès le début

même de la gestation avait déterminé une infection intense de l'embryon, dont la spirillose eut le temps d'évoluer avant la mise bas, déterminant ainsi une immunité active congénitale.

*
* *

De l'ensemble des expériences que nous avons résumées dans ce travail, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1° Les spirilles de la fièvre récurrente, qu'il s'agisse du spirille d'Obermeier ou du spirille de Dutton, peuvent passer de la mère au fœtus. Nos recherches ne nous ont pas permis d'établir que cette hérédito-contagion fût constante et nous ne l'avons guère observée dans plus de 80 p. 400 des cas.

2° Lorsque la gestation est à son début, l'infection spirillaire fœtale est massive, tandis que pendant la seconde moitié de la gestation, l'hérédito-contagion se réalise d'une façon plus discrète.

3° Il n'est pas nécessaire qu'il existe des lésions placentaires pour que les spirilles puissent passer de la mère au fœtus : les spirilles, en effet, sont aptes à traverser les éléments ectodermiques du placenta et à franchir les endothéliums des capillaires fœtaux. Au début de la grossesse, chez le rat et la souris, les spirilles semblent surtout se propager par l'intermédiaire des membranes et de leurs vaisseaux, tandis que, sur les femelles à terme, la migration se fait à travers la portion spongieuse du placenta.

4° Lorsqu'une inoculation est pratiquée au début de la gestation, les fœtus au moment de la naissance peuvent posséder une immunité active. Lorsque la femelle est inoculée peu de temps avant la mise bas, les petits ne possèdent pas d'immunité dans les premiers jours qui suivent la naissance et ne deviennent réfractaires que tardivement lorsque l'hérédito-contagion a enfin déterminé chez le nouveau-né l'apparition de l'infection spirillaire.

EXPLICATION DE LA PLANCHE VIII

FIG. 1. *Pénétration des spirilles dans la cavité de la vésicule ombilicale, vers le début de la gestation (sp. d'Obermeier).* — Les spirilles, nombreux dans les vaisseaux maternels et dans les tissus ectoplacentaires de la zone marginale du placenta du rat, traversent la cuticule ectodermique et l'endoderme distal; ils tombent ainsi dans la cavité de la vésicule ombilicale située à gauche de la figure (imprégnation à l'argent. Imm. 12, ocul. 6).

FIG. 2. *Pénétration des spirilles dans les tissus embryonnaires.* — A droite de la figure, on reconnaît deux spirilles dans la cavité générale de l'embryon (imprégnation à l'argent. Imm. 12, ocul. 6).

FIG. 3. *Pénétration des spirilles dans le plasmode, vers le milieu de la gestation.* — Les *vaisseaux maternels*, facilement reconnaissables à leur paroi dépourvue d'endothélium et à leurs hématies plus petites, contiennent d'assez nombreux spirilles colorés en un noir franc par l'argent; les *vaisseaux fœtaux* ne renferment aucun parasite; le *plasmode* est riche en spirilles qui s'imprègnent moins fortement que les spirilles libres; en haut et à droite de la figure, on voit un spirille passant d'un vaisseau maternel dans le plasmode (imprégnation à l'argent, surcoloration à l'éosine. Imm. 12, ocul. 6).

FIG. 4. *Pénétration des spirilles dans les membranes et les vaisseaux de l'embryon.* — *A gauche, le placenta*; en haut, section d'un vaisseau maternel, riche en spirilles; dans les deux tiers inférieurs, le tissu mucoïde allantoïdien dans lequel ont pénétré les spirilles; à la partie centrale de la figure, espace compris entre l'insertion placentaire de l'allantoïde et l'amnios. — *A droite, amnios*; on voit les spirilles passer à travers les tissus de l'amnios et pénétrer dans ses vaisseaux. La coupe est faite sur la ligne médiane un peu en dehors de l'insertion du cordon chez un embryon de rat de moins d'une semaine (imprégnation à l'argent. Imm. 12, ocul. 6).

ESSAIS DE TRANSMISSION DE LA SCARLATINE AUX SINGES

par K. LANDSTEINER et C. LEVADITI,
en collaboration avec E. PRASEK.

(Avec les Pl. IX, X et XI)

(Travail de l'hôpital Wilhelmine, de Vienne, et de l'Institut Pasteur de Paris.)

Depuis les mémorables recherches de Metchnikoff et Roux sur l'inoculabilité de la syphilis au chimpanzé, on a tenté de divers côtés la transmission de la scarlatine aux singes anthropoïdes et aux catarrhiniens inférieurs. La plupart des essais sont restés infructueux, telles, entre autres, les expériences inédites de Metchnikoff et Vaillard et de Louis Martin, faites à l'Institut Pasteur. Seules les investigations antérieures de Grünbaum (1) ont abouti à des résultats encourageants. Le savant anglais a réussi, en effet, à provoquer une angine chez un chimpanzé, en badigeonnant la gorge de l'animal avec des produits prélevés sur les amygdales d'un scarlatineux. Toutefois cette angine ayant évolué sans que l'on ait observé de phénomènes éruptifs, on ne pouvait formuler rien de précis quant à l'inoculabilité du virus scarlatineux aux anthropoïdes.

Grâce à l'appui de l'Institut Pasteur, nous avons entrepris, depuis février 1914, une série de recherches dans le but de préciser si le virus scarlatineux est pathogène pour le chimpanzé et les singes en général, si la maladie offre, chez les simiens, les mêmes caractères que l'infection scarlatineuse humaine et si l'expérimentation n'ouvrait pas la voie à l'étude de cette infection. Ces recherches ont été réalisées en partie à Vienne (Hôpital Wilhelmine), en partie à l'Institut Pasteur de Paris. Dès le début, nous nous sommes convaincus des grandes difficultés qui entourent le problème, difficultés dues en grande partie à la sensibilité inégale des animaux, à l'impossibilité de disposer, au moment voulu, d'un nombre suffisant de chimpanzés afin d'assurer des passages réguliers et étudier la nature

(1) GRÜNBAUM, *Brit. med. Journal*, 1904.

Fig. 1.

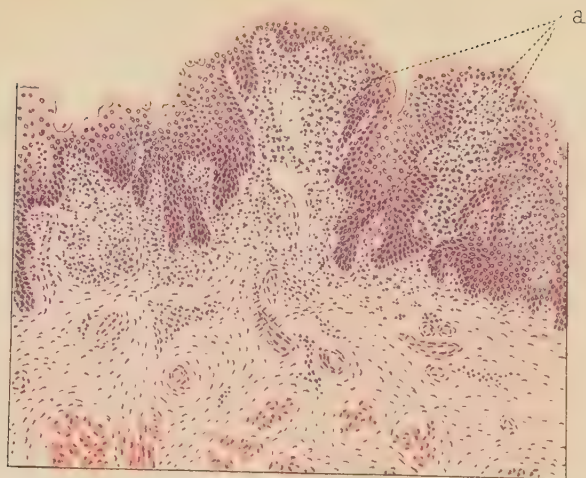


Fig. 2.

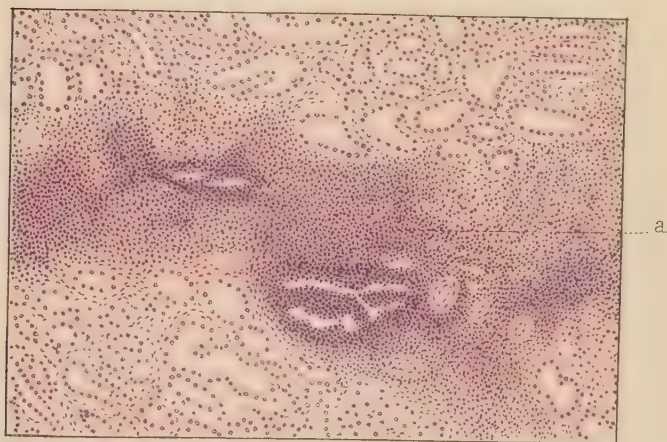


Fig. 3.

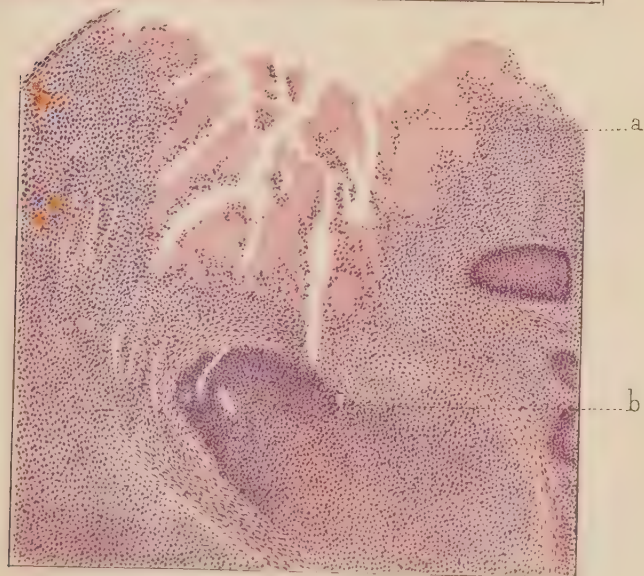




Fig. 4.

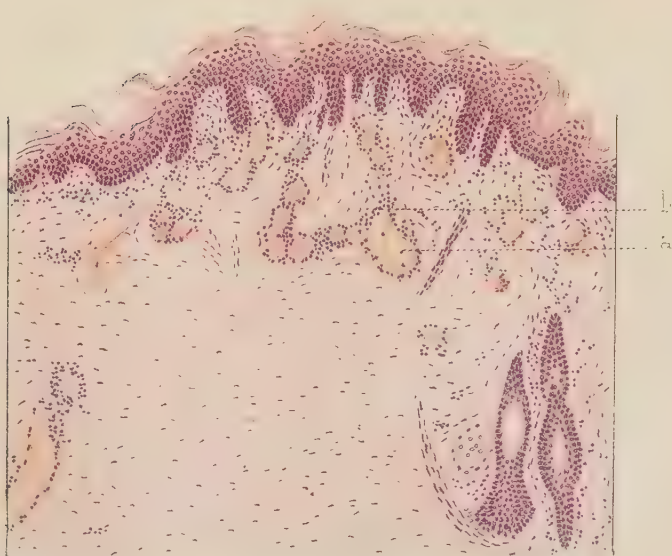


Fig. 5

Fig. 6.



Fig. 7.

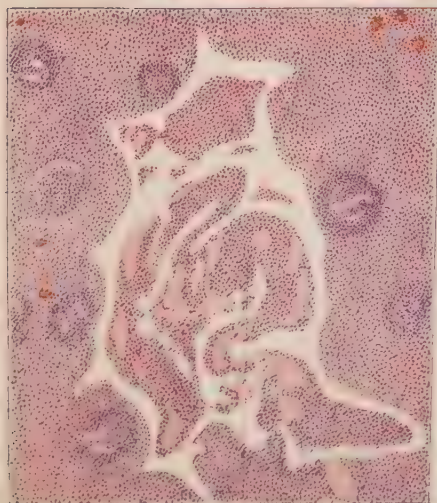


Fig. 8.

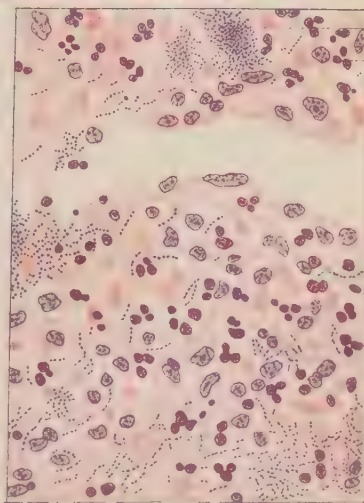


Fig. 9.

du virus, au diagnostic souvent difficile de la scarlatine expérimentale, etc. Malgré ces nombreuses difficultés, nous pensons avoir obtenu des résultats assez intéressants pour que leur publication, dès maintenant, soit justifiée. Il ne s'agit, du reste, que de recherches d'orientation, recherches qui demandent à être répétées et que nous nous proposons de continuer (1).

EXPÉRIENCE I.

Notre première expérience date du 3 février 1911. A cette date, et pendant les jours suivants, nous badigeonnons la gorge d'un chimpanzé M avec du dépôt prélevé sur les amygdales et le pharynx de plusieurs enfants atteints de scarlatine avec angine (2). Trois jours après on enregistre une élévation de la température (38 degrés) et une rougeur, accompagnée d'une tuméfaction des amygdales et de la muqueuse du pharynx. Dans la suite, fièvre légère, les signes d'angine deviennent plus apparents, et on décèle des streptocoques dans le dépôt amygdalien. Le 7 février, nouveau badigeonnage de la gorge, et le lendemain on injecte sous la peau 75 centimètres cubes de sang défibriné, retiré de la veine d'un sujet atteint de scarlatine à allures graves. Le 9 février la température atteint 40 degrés, l'animal vomit et on constate une rougeur et une tuméfaction intenses des amygdales, des piliers et de la muqueuse pharyngée. On relève, en outre, la présence de dépôts blanchâtres sur les amygdales, et on constate que la peau des extrémités, de la tête et du cou offre un exanthème formé de petites taches rougeâtres, en partie presque confluentes. Le lendemain, la température se maintient à 40 degrés, l'exanthème persiste, la langue est chargée, les papilles linguales tuméfiées. Le 11 février, rougeur et tuméfaction d'une des régions correspondant à l'inoculation de sang, *exanthème*, angine avec gros dépôts brun-jaunâtres, la langue rouge, les follicules apparents et tuméfiés; l'animal est malade. Le 12 février, température : 39°, état général mauvais, la muqueuse de la gorge rouge et turgescente, les papilles linguales très proéminentes; dépôts amygdaliens abondants. Sur la région thoracique, formation d'abcès au point d'injection du sang, avec streptocoques dans le pus. Sur le tronc et les extrémités, exanthème, par places confluent. L'animal meurt le 13 février.

PROTOCOLE DÉTAILLÉ.

Le 2 février. Température avant l'inoculation : matin, 37 degrés; soir, 36°4.

Le 3 février, matin : badigeonnage de la gorge avec dépôts amygdaliens d'un cas de scarlatine (n° 1). Température : matin, 36°9; soir, 36°6.

Le 4 février, matin : nouveau badigeonnage avec des produits d'un autre cas de scarlatine (n° 2). Température : matin, 36°7; soir, 36°9.

Le 5 février. Température : matin, 37°4; soir, 36°7.

Le 6 février. Température : matin, 38 degrés; soir, 38 degrés. Examen de la gorge : Légère rougeur et tuméfaction du pharynx et des amygdales.

Le 7 février. Température : matin, 38°5; midi, 38°2; soir (6 heures), 36°8; soir (9 h. 1/2), 36°9. Examen de la gorge : rougeur et tuméfaction plus accentuées qu'hier, les follicules apparents. Diarrhée. Les frottis de la gorge montrent

(1) Une partie de ces recherches ont été résumées dans une note communiquée à la Société de Biologie (29 avril 1911, t. LXX, p. 641-643) et à l'Académie des sciences (1911, séance du 1^{er} mai).

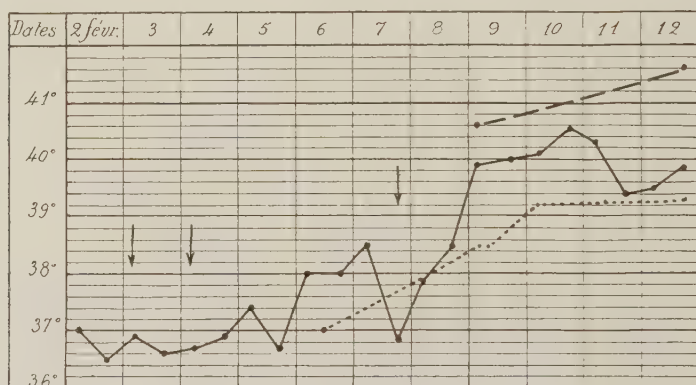
(2) Service de M. le Dr Pospischill.

de nombreux streptocoques. Dans l'après-midi, *nouveau badigeonnage* de la gorge avec des produits scarlatineux (cas n° 3).

Le 8 février. Température : matin, 37°8; soir, 38°5. Le matin on injecte sous la peau, en trois endroits (face interne des deux cuisses et thorax), 75 centimètres cubes de sang défibriné provenant d'un nouveau cas de scarlatine à allure assez grave (pris dans la veine).

Le 9 février. Température : matin, 39°9; soir, 40 degrés. Forte tuméfaction et rougeur du pharynx, des amygdales et du voile palatin. Les follicules du bord de la langue paraissent plus tuméfiés. Dépôts blancs de la grandeur d'une lentille derrière les amygdales, sur la paroi pharyngée. Dans l'après-midi on constate un *exanthème* généralisé, plus accentué cependant sur les extrémités, la tête et le cou. Vomissements.

Le 10 février. Température : matin, 40°1; soir, 40°5. Les follicules de la langue sont très tuméfiés, surtout sur les bords, la langue est chargée. Exanthème confluent, sous forme de petites taches rougeâtres, non proéminentes, sur les extrémités et le tronc, plus effacé sur la tête. L'animal ne mange pas.



TRACÉ 1. — Température du chimpanzé M.

Les flèches indiquent les inoculations;, angine; — — —, exanthème.

Le 11 février. Température : matin, 40°3; soir, 39°4. L'exanthème persiste, il est d'un rouge plus vif, la langue est chargée, les papilles tuméfiées. L'endroit correspondant à une des injections de sang (côté droit) est tuméfié et rouge. Les deux régions inguinales sont douloureuses à la pression. L'animal ne mange pas. *Examen de la gorge* (fait l'après-midi) : Les deux amygdales sont couvertes d'un dépôt épais, consistant, brun-jaunâtre. La muqueuse des amygdales est très rouge et tuméfiée, les follicules amygdaliens et ceux des piliers sont apparents. La langue est plus rouge, ses papilles sont saillantes. L'animal est abattu, ne mange pas. Diarrhée.

Le 12 février. Température : matin, 39°5; soir 39°8. L'animal est très malade. Les dépôts amygdaliens ne sont pas aussi confluent qu'hier, mais sont encore assez visibles. La muqueuse pharyngée rouge, les papilles linguales très proéminentes, la langue plus rouge qu'auparavant, en partie couverte de dépôts. Fétidité de l'haleine.

L'abcès formé au point d'injection du sang s'est ouvert : dans le pus on constate de très nombreux streptocoques. L'exanthème persiste sur les extrémités et le tronc, sous forme de petites taches rouges confluentes. Le soir convulsions et dyspnée.

L'animal meurt le 13 février entre trois et six heures du matin.

Résumé. — L'inoculation de produits scarlatineux, pratiquée dans la gorge (*dépôts amygdaliens*) et sous la peau (*sang scarlatineux*), a provoqué chez le chimpanzé :

1° Une *angine*, caractérisée par la rougeur et la tuméfaction de la muqueuse du pharynx et des amygdales et par la formation de dépôts épais, gris jaunâtres, sur la muqueuse amygdalienne. Il y a eu également tuméfaction des follicules de la langue, dont la surface était, en partie, couverte de dépôts et les bords rouges ;

2° Un *exanthème généralisé*, ressemblant à l'exanthème scarlatineux ;

3° Une *infection fébrile*, accompagnée de la formation d'un abcès à streptocoques, à l'endroit où fut pratiquée l'une des injections de sang, infection qui devint mortelle.

L'*incubation* de l'angine, première manifestation de la maladie, a été de *trois jours*.

Voici, en outre, les lésions que nous avons observées à la *nécropsie* de l'animal, pratiquée le 13 février, quelques heures après la mort :

Dépôt blanc sur la partie antérieure de la *langue* ; les follicules sont proéminents et rougeâtres, surtout ceux de la base de la langue et de la paroi pharyngée. Les amygdales sont très hypertrophiées, le tissu amygdalien blanc, mou, diffluent. Sur l'amygdale droite, dépôts gris-jaunâtres, de la grosseur d'une lentille. La surface de l'amygdale gauche est ulcérée. Petit foyer de nécrose sur l'épiglotte. La muqueuse du pharynx et des piliers est tuméfiée. Les *ganglions cervicaux* sont très hypertrophiés, succulents, rouge-gris à la section, avec des taches rouge foncé ; ils forment une chaîne qui descend des deux côtés le long des vaisseaux. Les masses ganglionnaires du médiastin antérieur sont également grossies, rouge foncé. Le thymus est gros, la muqueuse trachéale pâle. Fines membranes fibrineuses sur le péricarde.

Le *poumon* d'aspect normal ; sur le bord, quelques foyers atélectasiques. Hémorragies punctiformes sur les plèvres. La *rate* très hypertrophiée ; la pulpe est épaisse, rouge foncée, les follicules plus apparents. Le *foie* jaune clair, uniforme sur coupe. Les *reins* sont tuméfiés, la surface unie, le parenchyme mou, très succulent, l'écorce large de 1 cent. 5, jaune clair, les pyramides roses. Les ganglions de la veine porte sont tuméfiés, comme, d'ailleurs, ceux qui entourent le col de la vésicule biliaire et la région iliaque. Hypertrophie des follicules intestinaux et des plaques de Peyer ; la muqueuse de l'intestin grêle légèrement turgescente. Deux des régions correspondantes à l'injection de sang montrent des hématomes, sans suppuration ; la troisième, celle de la partie latérale droite du thorax, est le siège d'une collection purulente.

EXAMEN HISTOLOGIQUE. — Nous avons examiné des coupes d'*amygdale*, de *langue*, de *peau* (excisée au niveau de l'exanthème) et de *rein*.

Amygdale (V. pl. IX, fig. 3). L'épithélium de recouvrement montre une solution de continuité assez étendue; au voisinage de l'ulcération, les éléments épithéliaux sont dissociés par des cellules migratrices, la plupart des polynucléaires, en partie dégénérées. Le fond de l'ulcération est constitué par un tissu nécrosé, riche en grosses bactéries ne prenant pas le Gram, et en fibrine. La zone qui sépare le tissu nécrosé du reste de l'amygdale est constituée par de nombreux polynucléaires. Les cryptes sont obstruées par des bouchons fibrino-leucocytaires.

Sur les coupes colorées au Gram, on constate la présence de véritables zooglées de coccus prenant le Gram; la plupart de ces microbes sont disposés en chaînettes de 6 à 8 éléments. Ces *streptocoques* sont abondants surtout vers la partie profonde des tissus nécrosés; ils n'envahissent pas le reste de l'amygdale.

Langue (V. pl. IX, fig. 4). Les couches superficielles de l'épithélium montrent un état vacuolaire des éléments constitutifs; les espaces clairs qui séparent les cellules épithéliales contiennent des leucocytes polynucléaires, en partie dégénérés. Ce phénomène de vacuolisation et de dissociation par des éléments migrants est encore plus accentué au niveau de la couche basale. Les papilles sont grossies et fortement enflammées. L'inflammation, généralement péri-vasculaire, est constituée surtout par des globules blancs mononucléaires. Les vaisseaux sont dilatés, et il en est de même de certains espaces lymphatiques.

Peau (V. pl. X, fig. 4). Au niveau de la couche cornée on constate, par endroits, une accumulation de polynucléaires, formant de petits foyers microscopiques, couverts d'une ou deux rangées d'éléments épithéliaux ayant subi la transformation cornée. Ces foyers ressemblent en tous points à ceux que l'on observe sur des coupes de peau dans certains cas de scarlatine (V. pl. XI, fig. 6). Le reste de l'épithélium ne montre pas de lésions. Par contre, au niveau des papilles, on observe une *dilatation très marquée des vaisseaux*. Ceux-ci sont, en partie, entourés d'une zone cellulaire formée par de rares polynucléaires et de nombreux leucocytes à un seul noyau. Parmi ces derniers, on en distingue qui se rattachent au groupe des lymphocytes et dont le noyau est rond, petit et foncé, et d'autres dont le protoplasma est plus abondant et le noyau vésiculeux plus pâle.

Rein (V. pl. IX, fig. 2). Foyers interstitiels formés par des

leucocytes mononucléaires ; pas de signes nets de néphrite épithéliale.

EXPÉRIENCE II.

Un chimpanzé mâle C reçoit :

Le 18 juin, 20 cent. cubes de sang scarlatineux défibriné, sous la peau du ventre à droite ; on badigeonne la gorge avec des produits prélevés sur les amygdales du sujet qui a fourni le sang.

Le 19 juin, 10 cent. cubes de sang d'un autre cas de scarlatine, sous la peau du ventre à droite ; badigeonnage de la gorge.

Le 21 juin, 5 cent. cubes d'une émulsion de ganglions cervicaux provenant d'un cas mortel de scarlatine, sous la peau du ventre à gauche (matériel envoyé de Vienne, conservé dans de la glycérine).

Le 23 juin, 5 cent. cubes de sang scarlatineux sous la peau ; badigeonnage de la gorge.

Le 21 juin, soit trois jours après la première inoculation, on constate quelques points blancs sur la face postérieure des amygdales. Le lendemain, les signes d'angine deviennent plus apparents, la gorge est rouge, les dépôts amygdaliens plus étendus, les papilles linguales proéminentes, la base de la langue rouge. Le 23 juin, rougeur de la peau au point d'injection ganglionnaire, sur une surface de 2 cent. carrés ; angine. Le 24 juin, soit six jours après la première inoculation, on observe, au niveau de la région pubienne, un érythème sous forme de taches rouges, non proéminentes, confluentes ; la peau du cou et du thorax est plus rosée, l'angine intense (dépôts blanc-grisâtres sur les amygdales, rougeur de la muqueuse amygdalo-pharyngée). Dans l'après-midi, l'érythème s'étend ; il occupe tout le côté gauche de l'abdomen, s'arrête sur la ligne médiane et paraît plus marqué dans la région pubienne. Le 25 juin, angine plus forte qu'hier, érythème plus apparent et plus étendu ; sur le côté gauche de l'abdomen, vers le milieu de la région où l'érythème est plus prononcé, on constate un point induré, correspondant à l'endroit où fut pratiquée l'injection de l'émulsion ganglionnaire. Le 26 juin, l'érythème semble rétrocéder, mais l'angine persiste. Le lendemain, on constate sur l'amygdale gauche des dépôts pultacés plus petits ; la langue, saburrale, se desquame légèrement. L'animal meurt subitement le matin du 28 juin ; à l'examen on trouve une éruption érythémateuse occupant le côté gauche du thorax, les trois quarts de l'abdomen, une partie du cou et descendant sur le pubis. Empâtement et fluctuation, sur une surface de 2 cent. carrés, du côté gauche du ventre.

Pas de forte élévation de la température pendant l'évolution de la maladie.

PROTOCOLE DÉTAILLÉ.

Le 18 juin. Température avant l'inoculation : 36 degrés. On injecte sous la peau 20 cent. cubes de sang défibriné obtenu par ponction veineuse d'un enfant atteint de scarlatine (forme légère). Badigeonnage de la gorge avec produits prélevés sur les amygdales du même malade.

Le 19 juin. Température 36°4. On se sert de matériaux provenant de deux cas de scarlatine du service de M. le Dr Triboulet (1) (Hôpital Trousseau). Le premier malade présentait une éruption relativement discrète, avait une forte angine, du jetage et de la fièvre (39°5) ; le second était atteint d'une scarla-

(1) Nous prions M. les Drs Pospischill, Triboulet et Rudinesco de recevoir nos remerciements pour l'amabilité avec laquelle ils nous ont fourni le matériel dont nous avons eu besoin pour nos recherches.

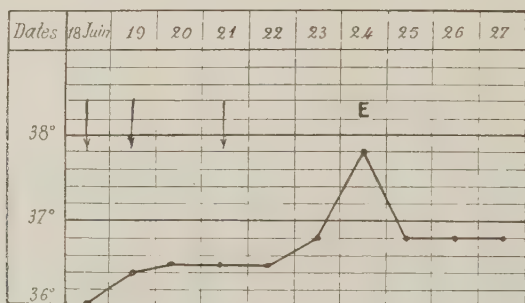
tine assez grave, avec éruption et angine (temp. 38°8). On injecte sous la peau du chimpanzé 10 cent. cubes de sang du premier malade (après défibrination); on mélange les dépôts amygdaliens des deux cas, on les émulsionne dans de l'eau salée et on s'en sert pour badigeonner la gorge de l'animal.

Le 20 juin. Rien de particulier. Température : 36°5.

Le 21 juin. Température : 36°5. Des ganglions cervicaux provenant d'un cas mortel de scarlatine sont envoyés de Vienne, dans de la glycérine; ils arrivent à Paris le 21 juin, sont triturés dans un mortier et suspendus dans de l'eau salée isotonique. L'émulsion est injectée à la dose de 5 centimètres cubes sous la peau de l'abdomen (côté gauche) et on s'en sert également pour badigeonner la gorge du chimpanzé.

L'examen de la gorge montre deux petits points blancs sur l'amygdale gauche, vers sa face postérieure.

Le 22 juin. Température : 36°5. L'angine est plus développée; les dépôts amygdaliens sont plus volumineux, la gorge est rouge, comme, d'ailleurs, la base de la langue; les papilles linguales sont proéminentes. Résorption complète, sans réaction visible, de l'émulsion ganglionnaire.



TRACÉ 2. — Température du chimpanzé C.
Les flèches indiquent les inoculations; E, érythème.

Le 23 juin. Température : 36°8. Examen de la gorge : rougeur et tuméfaction de la muqueuse amygdalienne et pharyngée; deux dépôts blanchâtres sur l'amygdale gauche, en arrière. La langue paraît plus sèche. Légère rougeur à l'endroit correspondant à l'inoculation du ganglion.

Nouveau badigeonnage de la gorge et injection de 10 centimètres cubes de sang défibriné, sous la peau (cas de scarlatine grave, avec angine nécrotique et éruption discrète, service de M. le Dr Hallé).

Le 24 juin. Température : 37°8. L'angine est très accentuée; sur la partie postérieure de l'amygdale gauche, plusieurs foyers blancs, de la grandeur d'une petite lentille; sur le pilier postérieur de l'amygdale droite, fausse membrane blanc grisâtre, enchassée dans une ulcération amygdalienne. La gorge et la base de la langue sont rouges.

Sur la peau, au niveau du pubis, on constate une plaque érythémateuse rougeâtre, sans contour précis, sur une surface d'environ 2 centimètres carrés. La peau du cou et du thorax paraît plus rosée.

Dans l'après-midi, on constate que l'érythème, qui, le matin, était localisé au pubis, s'est étendu; il occupe tout le côté gauche de l'abdomen, s'arrête un peu au delà de la ligne médiane et paraît plus accentué au niveau de la région pubienne. A droite de la ligne médiane, au niveau de l'inoculation du sang, la peau est verdâtre (formation d'hématome).

Le 25 juin. Température : 36°8. L'angine est plus prononcée qu'hier. Sur l'amygdale droite, grosse perte de substance couverte d'une fausse mem-

brane blanc grisâtre; angine pultacée, à petits points blancs, sur l'amygdale gauche. La gorge et la base de la langue sont rouges, la langue sèche, couverte de dépôts vers sa partie médiane.

Frottis du dépôt amygdalien : *diplocoques prenant le Gram*. L'érythème est plus étendu qu'auparavant. Au milieu de la région abdominale gauche, on sent un petit empâtement qui paraît correspondre à l'endroit de l'inoculation du ganglion.

Le 26 juin. Température : 36°8. Même état de la gorge et de la langue. L'éruption érythémateuse s'est en partie effacée; elle persiste en bas, au niveau du pubis, et en haut, dans la région sternale supérieure.

Le 27 juin. Température : 36°8. Sur l'amygdale droite, un gros dépôt pseudo-membraneux; sur l'amygdale gauche, dépôts multiples pultacés. La langue, saburrale, se desquame légèrement. L'érythème a beaucoup pâli.

Le 28 juin. A 8 heures du matin, *l'animal succombe brusquement*. A l'examen, fait sitôt après la mort, on constate que l'érythème, qui avait notablement pâli le 26 et le 27 juin, est devenu beaucoup plus apparent. Il s'agit d'une éruption rouge, formée de petites plaques non proéminentes, confluentes, et qui occupe le côté gauche du thorax, les trois quarts de l'abdomen et le pubis. Du côté gauche de l'abdomen, à l'endroit qui correspond à l'injection de l'émulsion ganglionnaire, la peau est violacée sur une étendue de 2 centimètres carrés environ; on sent une légère fluctuation.

Résumé. — Les résultats de cette expérience sont comparables, en partie du moins, à ceux que nous avons obtenus dans notre première tentative. L'inoculation de produits scarlatineux (*dépôts amygdaliens, sang, ganglions*) a provoqué une maladie mortelle, ayant duré six jours, caractérisée par une angine avec fausses membranes et exulcération des amygdales et qui s'est accompagnée d'un érythème cutané. Cet érythème, plus localisé, a paru avoir, comme point de départ, le point d'inoculation des ganglions, là où il s'est formé, dans la suite, un abcès streptococcique. Le mouvement fébrile a été de beaucoup moins prononcé que chez notre premier chimpanzé. L'incubation de l'angine a été de *trois jours*.

Nécropsie. — Du côté droit de l'abdomen, à l'endroit correspondant à l'inoculation de sang, on constate une ecchymose sous-cutanée. Petite collection purulente à gauche. Les *poumons* sont normaux; le *péricarde* contient du liquide clair, sans fausses membranes; le *foie* paraît plus pâle, jaunâtre, dégénéré; la *rate* est grosse, congestionnée, avec les follicules apparents; les *ganglions mésentériques* hypertrophiés, rouges, parsemés de taches violacées; la substance corticale des reins est plus pâle; *l'intestin normal*.

Sur l'amygdale droite on constate une ulcération assez profonde, couverte d'une fausse membrane blanc grisâtre, peu adhérente. Petits foyers lacunaires sur l'amygdale gauche. La

muqueuse pharyngée est rouge; celle du larynx et de l'épiglotte d'aspect normal. La base de la langue est rouge, avec les papilles proéminentes; la langue est couverte de dépôts blanchâtres. Les *ganglions latéraux du cou* sont *fortement hypertrophiés et turgescents*; la coupe est d'une couleur rouge vif et semée de taches rouge foncé, ecchymotiques.

La *vessie* contient un peu d'*urine* claire, renfermant des traces appréciables d'albumine.

EXAMEN MICROSCOPIQUE. — *Amygdales* (Voy. pl. XI, fig. 8 et 9). L'épithélium de recouvrement montre des solutions de continuité plus ou moins étendues. Les cellules épithéliales sont en partie dégénérées et dissociées par de nombreux leucocytes polynucléaires. Les cryptes sont obstruées par des bouchons formés de globules blancs à noyaux polymorphes, la plupart nécrosés. Foyers de nécrose dans la partie centrale et profonde de la coupe, et dilatation vasculaire. Sur les préparations colorées au Gram (fig. 9) ou au bleu polychrome, on constate de nombreuses bactéries, surtout au niveau des bouchons qui obstruent les cryptes et dans les foyers nécrotiques. A la surface, on décèle de petits bâtonnets et des amas de coccus, mais dans la profondeur ce sont les *streptocoques* qui prédominent. On observe de véritables zoogléas de coccus en chaînettes, plus nombreuses au point de contact entre les bouchons leucocytaires et le tissu amygdalien. Toutefois, les streptocoques n'envahissent pas le tissu propre de l'amygdale dans les régions où ce tissu a conservé son aspect normal. *A remarquer la présence des streptocoques dans les foyers nécrotiques profonds.*

Peau (excisée au niveau de l'érythème, assez loin du foyer purulent). Les couches épithéliales de l'épiderme offrent un aspect normal. Les vaisseaux des papilles et des couches superficielles du derme sont dilatés et entourés de manchons leucocytaires. Vers la surface, on constate une prédominance des cellules mononucléaires; lymphocytes et éléments à noyau clair et à protoplasma abondent; vers la profondeur, le nombre des polynucléaires augmente sensiblement, et l'infiltration est moins nettement périvasculaire. Sur les coupes colorées au bleu polychrome, on constate *l'absence complète de microbes au niveau des infiltrations périvasculaires des papilles*, mais, dans

la profondeur du derme, au voisinage d'un foyer qui entoure un vaisseau dilaté, on décèle plusieurs amas de streptocoques.

Langue. Les couches superficielles de l'épithélium sont vacuolisées et se desquament en partie. Les papilles sont le siège d'une infiltration intense. Les vaisseaux papillaires sont dilatés et entourés de manchons formés de cellules migratrices, pour la plupart des mononucléaires et des lymphocytes.

Ganglions cervicaux. Dilatation des sinus et des vaisseaux; hémorragies périvasculaires. *Pas de microbes sur les coupes colorées au Gram ou au bleu polychrome.*

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE. — *Sang du cœur : Cultures pures de streptocoque. Pus de l'abcès cutané : sur frottis, streptocoques et petits bacilles minces, à points métachromatiques; cultures : colonies de streptocoques associées à des amas de petits coccus prenant le Gram.*

*
* * *

Dans les deux expériences qui précèdent, l'inoculation de produits scarlatineux a été suivie de l'éclosion d'une angine et a provoqué des manifestations cutanées : exanthème généralisé dans la première, érythème localisé dans la seconde. Par contre, *dans l'expérience suivante, nous n'avons eu à enregistrer que des phénomènes inflammatoires localisés aux amygdales, sans nul signe cutané.*

Chimpanzé femelle J. — Le 17 février, badigeonnage de la gorge avec des produits prélevés sur les amygdales d'un enfant atteint de scarlatine (intensité moyenne); injection de 56 centimètres cubes de sang provenant du même malade (sous la peau). Nouveaux badigeonnages le 18 et le 20 février; injection de 40 cent. cubes de sang le 20 février; inoculation sous-cutanée d'une émulsion de dépôt amygdalien le 21 février.

L'angine a débuté le deuxième jour, a atteint son maximum le cinquième et a disparu complètement le huitième. Elle s'est accompagnée d'une élévation de la température et a présenté les caractères de l'angine observée chez nos deux premiers chimpanzés. Même aspect de la langue et *présence de streptocoques dans les frottis faits avec les fausses membranes.* Ces streptocoques ont pu être cultivés.

PROTOCOLE DÉTAILLÉ.

Le 17 février, avant l'inoculation. Température : matin, 37°6. On inocule sous la peau, en quatre points différents, 56 cent. cubes de sang défibriné provenant d'un cas de scarlatine. On badigeonne la gorge avec du dépôt amygdalien pris sur un autre malade. Avant l'inoculation, les amygdales ont l'aspect normal; la muqueuse pharyngée est pâle, les follicules de la base de la langue et du pharynx sont peu apparents.

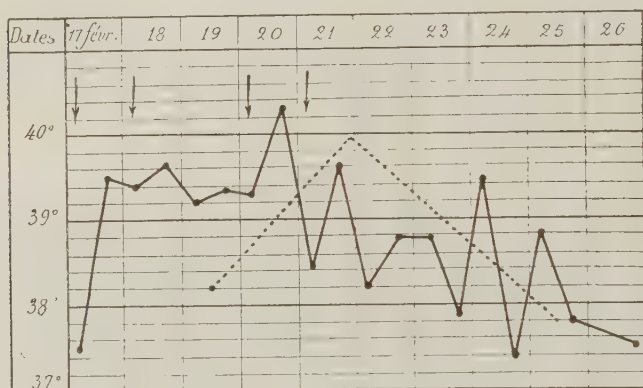
Le 18 février. Température : matin, 39°4; soir, 39°7. Rien de particulier dans la gorge. Nouveau badigeonnage avec des dépôts amygdaliens provenant d'un autre sujet scarlatineux.

Le 19 février. Température : matin, 39°2; soir, 39°3. *Examen de la gorge* : à gauche, légère tuméfaction et rougeur du pilier antérieur. Sur l'amygdale, en avant et en haut, au niveau d'une lacune, dépôt blanchâtre de la grandeur d'un grain de millet. Sur la face postérieure quatre points blancs. *A droite*, petits dépôts punctiformes. Diarrhée.

Le 20 février. Température : matin, 39°3; soir, 40°3. Forte diarrhée. *Examen de la gorge* : les amygdales sont tuméfiées, manifestement plus rouges. Sur les amygdales, dépôts multiples, plus développés qu'hier, surtout sur la face postérieure. Les piliers rougeâtres, la langue chargée.

Frottis du dépôt amygdalien : nombreux streptocoques (courtes chaînettes de 4 à 6 éléments) disposés par paquets.

Cultures : streptocoques prenant le Gram et diplocoques Gram-négatifs.



TRACÉ 3. — Température du chimpanzé J.

Les flèches indiquent les inoculations;, angine.

Nouvelle inoculation de sang. On injecte sous la peau, en trois endroits différents, 35 cent. cubes de sang pris dans la veine d'un scarlatineux, en pleine éruption, et 4 cent. cubes du même sang dans la cavité péritonéale.

On badigeonne la gorge avec du dépôt amygdalien provenant du même malade.

Le 21 février. Température : matin, 38°4; soir, 39°6. *Examen de la gorge* : l'amygdale gauche de la même grandeur qu'hier, mais plus rouge et exulcérée. Sur l'amygdale droite, plusieurs taches punctiformes, blanchâtres (4 à 5 sur la face antérieure). Le pharynx et la partie postérieure de la langue sont rouges, les papilles linguales saillantes; la partie moyenne de la langue est chargée, blanc-grisâtre. Les piliers antérieurs plus rouges, avec des follicules légèrement saillants. Plus de diarrhée; pas d'albumine dans les urines.

Frottis de la gorge : diplocoques et streptocoques prenant le Gram. Le matin on inocule dans l'épiderme, en deux endroits du thorax, du dépôt amygdalien provenant d'un cas frais de scarlatine (émulsion faite dans de l'eau salée).

Le 22 février. Température : matin, 38°1; soir, 38°7. *Examen de la gorge* : base de la langue rouge, les amygdales hypertrophiées, bosselées; sur l'amygdale droite fausse membrane blanc-grisâtre, la couvrant presque entièrement. On détache la membrane qui se montre consistante et s'écrase diffi-

cilement. L'amygdale gauche, également hypertrophiée, est couverte d'une fausse membrane ressemblant à la précédente, mais moins développée qu'elle.

Frottis faits avec la membrane : nombreux leucocytes polynucléaires et streptocoques prenant le Gram.

Le 23 février. Température : matin, 38°8; soir, 37°9. Les lésions de la gorge ont manifestement rétrogradé. On constate encore quelques petits points blancs (de 5 à 6) sur l'amygdale droite et d'autres, moins nombreux, sur l'amygdale gauche. Base de la langue rougeâtre.

Le 24 février. Température : matin, 39°4; soir, 37°4. *Examen de la gorge* : sur l'amygdale gauche, dépôts ronds, punctiformes, blanchâtres; rien sur l'amygdale droite. Les amygdales paraissent avoir diminué de volume et sont moins congestionnées. La base de la langue rougeâtre, surtout sur les rebords; les follicules sont apparents.

Sur le corps, et en particulier sur la poitrine, on constate une teinte rosâtre de la peau.

Le 25 février. Température : matin, 38°8; soir, 37°8. La gorge a presque repris son aspect normal. On constate cependant sur l'amygdale gauche la présence de deux petits points blancs, presque miliaires; quatre autres points analogues sur l'amygdale droite. Pas d'éruption.

Le 26 février. Température : matin, 37°7; soir, 37°6. Aspect normal de la gorge. Les frottis montrent une flore bactérienne variée, sans prédominance des streptocoques.

Résumé. — *L'inoculation de produits scarlatineux (dépôt amygdalien et sang), dans la gorge, sous la peau et dans le péritoine, a provoqué une angine, avec érosion de la muqueuse des amygdales et formation de fausses membranes.* Cette angine est apparue après une incubation de deux jours, s'est accompagnée de diarrhée et d'une forte élévation de la température et a guéri au bout de six jours. Il n'y a pas eu de manifestations du côté de la peau.

*
* *

Ces expériences nous ayant montré que l'inoculation des produits scarlatineux (dépôts amygdaliens) dans la gorge du chimpanzé engendre une angine typique, nous avons recherché quelles pouvaient être les suites d'une réinoculation pratiquée sur un animal guéri depuis peu. Nous nous sommes servi du chimpanzé J (V. expérience précédente) et nous avons constaté qu'une première atteinte ne paraît pas conférer l'immunité, lorsque la réinoculation est pratiquée deux jours après la disparition des signes d'angine. Voici les détails de cette expérience :

Le 27 et le 28 février, badigeonnage de la gorge avec des dépôts amygdaliens provenant de plusieurs cas de scarlatine d'intensité moyenne.

Le 27 février. Température : 38°4. Rien de particulier. *Première inoculation.*

Le 28 février. Température : 38 degrés. Rien de particulier. *Deuxième inoculation.*

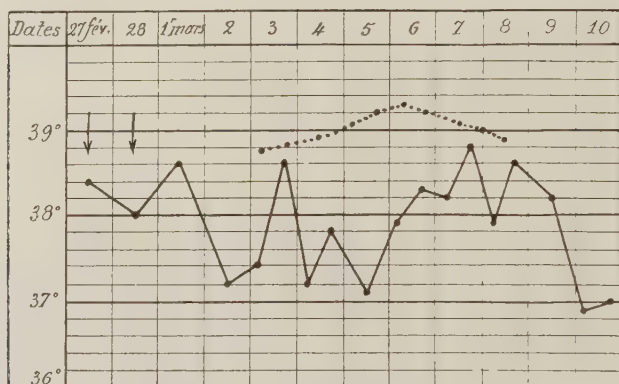
Le 1^{er} mars. Température : 38°6. Aspect normal de la gorge.

Le 2 mars. Température : 37°2. *Examen de la gorge.* Les amygdales sont rouges, les follicules apparents. Sur l'amygdale droite on constate un point blanchâtre. La langue est couverte au milieu d'un dépôt blanchâtre, ses bords sont rouges, les papilles saillantes.

Le 3 mars. Température : matin, 37°3; soir, 38°6. L'amygdale droite hypertrophiée; à sa partie inférieure on décèle quatre petits points blanchâtres, formés par un dépôt adhérent. La langue est plus propre, quoique encore blanche au centre. La base de la langue, les piliers, les amygdales et le fond du pharynx sont rouges.

Le 4 mars. Température : 37°2. Sur l'amygdale droite, qui est plus rouge et hypertrophiée, on constate de nombreux dépôts blanc-grisâtre, punctiformes; cinq à six points analogues sur la partie inférieure et postérieure de l'amygdale gauche. La langue est chargée au milieu et rouge vers sa base.

Frottis : nombreux streptocoques assez longs.



TRACÉ 4. — Température du chimpanzé J.

Les flèches indiquent les inoculations;, angine.

Le 5 mars. Température : 37°1. Les lésions de la gorge sont plus accusées qu'hier. Sur l'amygdale droite, principalement sur la face antérieure, de six à huit petits dépôts blancs. Sur la face antérieure de l'amygdale gauche fausse membrane de la grandeur d'une grosse lentille, couenneuse, blanchâtre; sur la face postérieure, dépôts miliaires multiples. Le fond de la gorge est rouge, comme aussi la base de la langue. Les papilles linguales sont proéminentes, nettement visibles, mais pâles.

Le 6 mars. Température : matin, 37°7; soir, 38°3. Les lésions de la gorge augmentent sensiblement d'intensité. L'amygdale droite est couverte d'une grosse fausse membrane consistante, adhérente, s'écrasant difficilement. Une fois cette membrane enlevée, la muqueuse apparaît ulcérée et sanguinolente. Sur l'amygdale droite, on constate plusieurs follicules blancs, proéminents. Le voile du palais et le pharynx sont congestionnés. La langue est plus détergée.

Pas d'éruption ni d'hypertrophie ganglionnaire.

Le 7 mars. Température : matin, 38°2; soir, 38°8. Les lésions de la gorge ont légèrement diminué d'intensité. On constate encore un gros dépôt blanc grisâtre sur l'amygdale gauche. L'amygdale droite, hypertrophiée et rouge, présente plusieurs points blanc-grisâtre, saillants. La base de la langue est rouge, les papilles sont hypertrophiées. Le dépôt qui couvrait le milieu de la langue est nettement moins étendu qu'hier.

Le 8 mars. Température : matin, 37°9 ; soir, 38°6. Fausse membrane sur l'amygdale gauche. L'amygdale droite est tuméfiée et rouge, la langue complètement détergée.

Le 9 mars. Température : 38°2. Les amygdales sont toujours hypertrophiées et rouges. On observe encore un petit dépôt grisâtre sur l'amygdale gauche.

Le 10 mars. Température : matin, 36°9 ; soir, 37 degrés. Guérison complète de la gorge.

L'animal est resté en observation jusqu'au 23 mars ; il n'a jamais présenté d'éruption ni de récive.

Résumé. — La réinoculation a provoqué une angine qui a débuté après une incubation de *trois jours*, qui a eu les mêmes caractères et a disparu complètement au bout de *sept jours*. Le mouvement fébrile a été toutefois moins prononcé que la première fois.

*
* *

Il résulte de ces expériences que l'inoculation dans la gorge des chimpanzés, de produits prélevés sur les amygdales d'enfants atteints de scarlatine en pleine évolution, provoque une angine qui ressemble à celle des sujets scarlatineux. L'inflammation de la muqueuse des amygdales, des piliers et du pharynx apparaît après une incubation qui varie de *deux à trois jours*. Il y a formation de fausses membranes et de dépôts pultacés, la muqueuse amygdalienne s'exulcère, les cryptes s'obstruent par des bouchons fibrino-leucocytaires. Le plus souvent, l'angine s'accompagne d'un mouvement fébrile et parfois de diarrhée ; elle guérit au bout d'environ six à sept jours et ne crée pas d'état réfractaire, lorsque la réinoculation est pratiquée peu de temps après la guérison (*deux jours*).

On peut dire que la transmissibilité de l'angine des scarlatineux au chimpanzé réussit assez facilement, puisque nous l'avons réalisée quatre fois sur quatre expériences, et qu'un résultat analogue avait déjà été enregistré par Grünbaum (1).

Deux fois sur quatre nous avons provoqué, par suite de l'inoculation sous-cutanée de sang et de ganglions scarlatineux, une infection généralisée plus ou moins fébrile, qui a évolué en même temps que l'angine et qui s'est terminée par la mort des animaux. Dans une première expérience cette infection s'est accompagnée d'une éruption généralisée ressemblant à l'exanthème scarlatineux ; dans la seconde, un érythème localisé a

(1) *Loc. cit.*, page 4754.

fait son apparition et a semblé avoir, comme point de départ, l'endroit où fut pratiquée l'inoculation de l'émulsion ganglionnaire.

Quelle est l'interprétation qu'il convient d'attribuer à ces faits, au point de vue de la transmissibilité de la scarlatine aux singes anthropoïdes? Il est incontestable que nos expériences sont trop peu nombreuses pour résoudre définitivement le problème; toutefois, un examen objectif de nos résultats semble pouvoir fournir quelques indications utiles à ce sujet. Considérons tout d'abord l'histoire clinique et l'examen anatomo-pathologique de notre *premier chimpanzé* M. L'angine, l'infection généralisée, l'état de la langue, l'exanthème sont autant de signes qui, au point de vue clinique, rattachent la maladie expérimentale à la scarlatine humaine. Au point de vue anatomo-pathologique, les lésions macroscopiques de la gorge, en particulier de l'amygdale et du pharynx, celles de la langue, l'hypertrophie des ganglions du cou, leur turgescence et leur congestion intenses ne font que confirmer cette manière de voir. Enfin, l'examen histologique, montrant une ressemblance frappante entre les lésions de l'amygdale, de la langue et de la peau, chez notre chimpanzé, d'une part, et celles des mêmes organes chez les scarlatineux, d'autre part, vient à l'appui de notre hypothèse. En effet, l'examen comparatif des planches qui accompagnent ce travail montre que les altérations de la langue et de la peau de l'animal ne sauraient être distinguées de celles des mêmes tissus dans la scarlatine humaine. En ce qui concerne la peau, même dilatation des vaisseaux, même inflammation périvasculaire, mêmes lésions de l'épiderme et accumulation de leucocytes polynucléaires au niveau de la couche cornée. Pour ce qui a trait à la langue, des deux côtés on trouve une intense inflammation des papilles, une dégénérescence vacuolaire de l'épithélium, de la desquamation et de la dissociation des éléments épithéliaux. Enfin, les coupes d'amygdale montrent la nécrose et l'ulcération des couches superficielles, la formation de bouchons fibrino-leucocytaires dans les cryptes et les fausses membranes. L'infection streptococcique elle-même, si fréquente au cours de la scarlatine, ne manque pas, pour compléter la ressemblance entre la maladie engendrée expérimentalement et la scarlatine humaine. Nous

avons découvert le streptocoque dans les amygdales, sur frottis et sur coupes, et nous l'avons décelé dans l'abcès qui s'est formé au point d'inoculation sous-cutanée du sang. Donc aucune discordance, mais partout des analogies extrêmement suggestives.

Notre seconde expérience est, par certains côtés, moins démonstrative que la première. L'inoculation du virus a bien provoqué une angine typique et une infection généralisée mortelle ; il y a bien eu, ici aussi, pullulation locale du streptocoque (amygdale et abcès cutané) et même septicémie streptococcique (présence du coccus en chaînettes dans le sang du cœur). Toutefois, l'éruption cutanée, par le fait qu'elle a paru avoir comme point de départ l'abcès streptococcique, et que l'examen microscopique a décelé des streptocoques dans le derme et une infiltration polynucléaire dans la profondeur, ne saurait être, sans réserves, considérée comme un érythème scarlatineux. Il est vrai que la dilatation vasculaire et l'inflammation des vaisseaux papillaires sont prononcées dans des régions de la peau fort éloignées des foyers streptococciques, et ne paraissent pas avoir évolué sous l'influence directe du microbe. Mais cet argument ne suffit pas, et nous devons considérer comme problématiques les rapports entre l'érythème constaté chez notre second animal et le vrai exanthème scarlatineux. Quant aux lésions de l'amygdale et de la langue, elles sont analogues à celles que nous avons enregistrées dans notre première expérience et ressemblent à celles de la scarlatine humaine.

Un autre argument que l'on pourrait invoquer en faveur de la nature scarlatineuse de la maladie engendrée expérimentalement est la durée de l'incubation de l'angine, qui correspond à celle de l'incubation de la scarlatine humaine. *Dans nos recherches, cette incubation a été de deux à trois jours*, à dater de la première inoculation. Or, chez l'homme, exception faite des incubations très longues de vingt et quarante jours, qui pourraient bien résulter d'observations imparfaites, on admet comme chiffres presque certains de *quatre à sept jours*, Wurtz (1) ; de *quatre à sept jours*, Leube (2) ; de *deux à quatre*

(1) WURTZ, Article « Scarlatine », dans le *Traité de médecine de Brouardel et Gilbert*, édit. 1895, p. 240.

(2) LEUBE, *Diagnostik*, etc.

jours, Strümpell (1); soit une *incubation de courte durée*.

Dans nos dernières expériences, l'inoculation des produits scarlatineux (dépôts amygdaliens et sang) n'a provoqué que l'angine; à aucun moment nous n'avons eu à enregistrer des manifestations bien nettes du côté de la peau. On sait cependant, que, chez l'homme, rien n'est plus capricieux que la symptomatologie de l'infection scarlatineuse et que des observations de scarlatine avec forte angine, mais sans éruption, ont été relatées assez souvent. Voici comment Würtz (2) s'exprime au sujet de ces scarlatines non éruptives : « A la suite de contact avec un scarlatineux, il survient chez un individu une fièvre intense accompagnée de mal de gorge. La langue est d'un rouge vif, d'aspect vernissé. Le pharynx et les amygdales, le voile du palais et la luette sont cramoisis, et il y a de l'adénite rétro-maxillaire. *L'examen le plus minutieux ne peut révéler aucun changement de coloration de la peau, si faible qu'il soit* ». Par contre, l'angine ne manque que très rarement, témoin Strümpell, qui affirme que « *l'inflammation de la gorge est, dans la scarlatine, la manifestation locale la plus fréquente. Elle ne manque complètement que dans des cas exceptionnellement rares* » (3). Si nous tenons compte, d'autre part, du fait que le chimpanzé, tout en étant l'animal le plus rapproché de l'homme, peut jouir d'une certaine immunité naturelle à l'égard du virus scarlatineux, nous devons bien admettre que, chez lui, la scarlatine pourrait évoluer sous la forme d'une infection généralisée avec angine, mais sans exanthème. Nous devons rappeler également que nous n'avons pas constaté d'exanthème de la bouche chez nos chimpanzés, sauf peut-être chez le premier, chez lequel la rougeur de la muqueuse buccale était très intense.

Ce sont là les principaux arguments qui nous semblent plaider en faveur de la nature scarlatineuse de la maladie expérimentale engendrée par l'inoculation du virus scarlatineux chez nos chimpanzés. Si cette hypothèse se trouvait confirmée et définitivement vérifiée à la suite de nouvelles recherches, on arrive-

(1) STRÜMPELL, *Lehrb. der spec. Patholog. und Therapie*, édit. 1897.

(2) *Loc. cit.*, p. 249.

(3) STRÜMPELL, *Loc. cit.* p. 63.

rait à envisager l'évolution de la scarlatine chez le chimpanzé, soit sous la forme d'une infection généralisée, avec angine et exanthème (scarlatine typique), soit, et peut-être plus fréquemment, sous l'aspect d'une maladie plus ou moins fébrile, ayant, comme symptôme principal, l'angine, et ne s'accompagnant pas d'éruption cutanée.

Toutefois, nous nous gardons bien de formuler quoi que ce soit de définitif dans cet ordre d'idées. Ce serait trop nous avancer que de considérer nos essais comme absolument démonstratifs, et affirmer la nature véritablement scarlatineuse de l'infection provoquée expérimentalement. Nos expériences sont trop peu nombreuses pour cela.

Dès le début de nos recherches nous nous sommes demandé si la maladie que nous avons engendrée expérimentalement n'était pas une simple infection à streptocoques, n'ayant aucun rapport avec le véritable processus scarlatineux. On sait, en effet, avec quelle fréquence le streptocoque pullule chez les scarlatineux, dans la gorge, le sang ou les organes, et nous avons vu, d'autre part, que le coccus en chaînettes a été retrouvé soit dans la gorge, soit dans les abcès cutanés, soit enfin dans le sang de nos animaux. Il fallait donc entreprendre des expériences dans le but de préciser le rôle du streptocoque dans la genèse de la maladie expérimentale; les tentatives suivantes se rattachent à cette question.

Nous avons recherché tout d'abord si l'inoculation, dans la gorge d'un chimpanzé, de streptocoques cultivés de la gorge d'un autre anthropoïde présentant une angine typique, provoquait des lésions amygdaliennes.

a) *Chimpanzé mâle N.*

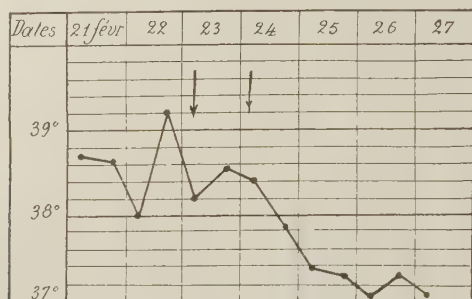
Le 21 février. Température : 38°7. Avant l'inoculation, la muqueuse amygdalienne paraît plus rouge, sans dépôts.

Le 23 février. Température : 38°2. On se sert d'une culture faite sur plaques de gélose, avec le dépôt amygdalien du chimpanzé *J* (voir page 763). Les colonies contiennent un diplocoque ne prenant pas le Gram et des streptocoques. On badigeonne la gorge avec un tampon chargé de culture.

Le 24 février. Température : 38°4. Nouveau badigeonnage avec une culture de troisième passage, contenant de nombreux streptocoques, émulsionnée dans de l'eau salée.

Rien de particulier jusqu'au 1^{er} mars. A ce moment (température : 36°8), on constate sur les deux amygdales un petit point blanc, gros comme un grain de millet, correspondant à une lacune.

Dans la suite, l'animal ne présente ni angine, ni élévation de température.



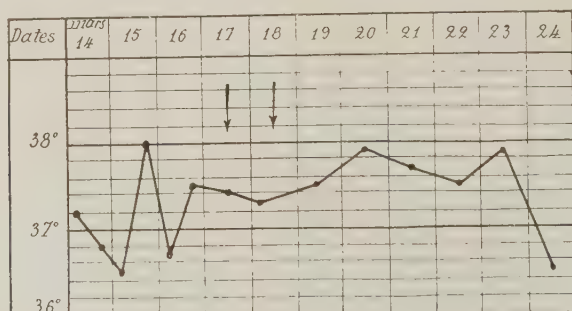
TRACÉ 5. — Température du chimpanzé N (inoculation de streptocoques).
Les flèches indiquent les inoculations.

b) Chimpanzé femelle R.

Le 17 mars. On se sert d'une culture de streptocoques provenant de la gorge du chimpanzé J (voir page 763), faite sur bouillon additionné de sérum de cheval. On centrifuge le contenu de quatre tubes, le dépôt est émulsionné dans l'eau salée et sert à badigeonner la gorge de l'animal.

Le 18 mars. Température : 37°3. On répète l'inoculation.

Le chimpanzé reste en observation du 19 au 27 mars. On ne remarque, pendant ce temps, ni manifestation dans la gorge, ni fièvre, ni éruption.



TRACÉ 6. — Température du chimpanzé R (inoculation de streptocoques).
Les flèches indiquent les inoculations.

c) Chimpanzé femelle H.

Le 17 mars. Température : 36°7. On se sert d'une culture de streptocoques isolés de la gorge du chimpanzé J (voir p. 763) sur bouillon additionné de sérum de cheval. On centrifuge le contenu de quatre tubes, on suspend le culot dans de l'eau salée et on s'en sert pour badigeonner la gorge de l'animal.

Le 18 mars. Température : 37°8. Pas de réaction dans la gorge. Nouveau badigeonnage avec la même culture.

Le 19 mars. Température : 36°8. Pas de réaction dans la gorge.

Le 20 mars. Température : 37°2. Pas de réaction dans la gorge.

Le 21 mars. Température : 37°2. Pas de réaction dans la gorge. On centrifuge cinq tubes de culture (bouillon-sérum de cheval) d'un streptocoque isolé d'un cas mortel de scarlatine. Le culot, émulsionné dans du bouillon, sert à

pratiquer un troisième badigeonnage de la gorge. De plus, on ajoute quinze gouttes de la même culture dans 20 centimètres cubes de sang humain normal, préalablement défibriné. Le sang est injecté en deux endroits, sous la peau du ventre. L'examen microscopique du sang montre deux ou trois streptocoques par champ.

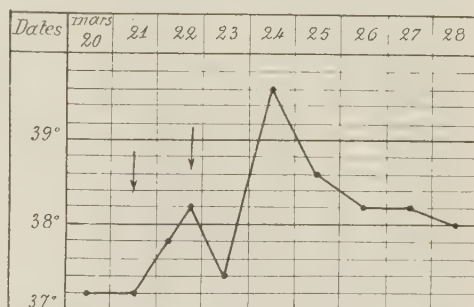
Le 22 mars. Température : matin, 37°8; soir, 38°2. Pas de réaction dans la

gorge. La langue chargée. Sur la peau de l'abdomen, au voisinage du point d'inoculation à droite, taches rouge-vineuses, confluentes, non papuleuses. L'aspect de ces taches est manifestement ecchymotique; elles occupent environ dix cent. carrés. Mêmes taches, moins développées, au niveau du pubis.

Le 23 mars. Température: 37°4. Pas de réaction dans la gorge. Les taches ne se généralisent pas et pâlisent.

Le 24 mars. Température: 39°6. Même état.

Du 25 au 28 mars. Les taches ecchymotiques disparaissent. Aucun signe d'angine, ni d'infection généralisée.



TRACÉ 7. — Température du chimpanzé H (inoculation de streptocoques).
Les flèches indiquent les inoculations.

d) Enfin, dans une dernière expérience, nous avons essayé la virulence de nos streptocoques scarlatineux pour les singes inférieurs. Nous nous sommes servi du streptocoque isolé du sang de notre second chimpanzé (voy. page 759), cultivé sur bouillon additionné de sérum de cheval.

Macacus cynomolgus, n° 91. Le 7 juillet, on injecte sous la peau 2 cent. cubes d'une émulsion de corps microbiens, isolés par centrifugation de plusieurs tubes de bouillon. Le 10 juillet, il se forme un petit abcès au point d'injection, mais l'état général n'a pas été influencé. Pas d'éruption, ni angine.

Macacus Rhesus, n° 69, reçoit dans les veines 2 cent. cubes de la même émulsion le 13 juillet. Aucune manifestation dans la suite.

Il résulte de ces expériences que le streptocoque, qu'il s'agisse de variétés streptococciques isolées de la gorge des chimpanzés atteints d'angine scarlatineuse, ou du sang de chimpanzé infecté, ou bien encore de coccus en chaînettes provenant de cas de scarlatine humaine, ne semble pas être l'agent causal de la maladie provoquée chez les anthropoïdes par l'inoculation de produits scarlatineux. Il n'engendre pas l'angine quand on le dépose dans la gorge, et ne produit qu'une lésion locale inflammatoire, suivie de suppuration, lorsqu'on l'injecte sous la peau. Sa pathogénité pour le *Macacus cynomolgus* et le rhesus paraît

très faible. En somme, si notre hypothèse de la transmissibilité de la scarlatine au chimpanzé se trouvait confirmée à l'avenir, on devra admettre que le *streptocoque*, tout en accompagnant fréquemment le virus de l'infection scarlatineuse, ne saurait être identifié avec ce virus, comme d'ailleurs le soutiennent la plupart des auteurs. La véritable nature de l'agent pathogène de la scarlatine reste donc à découvrir.

Ajoutons, pour clore l'exposé de nos recherches, que deux tentatives préliminaires de passage faite sur le chimpanzé, l'une avec les produits de l'angine du chimpanzé J (voy. page 763), l'autre avec du sang additionné de dépôts amygdaliens du même animal (inoculation dans la gorge et sous la peau), sont restées infructueuses.

Peu de temps avant la publication de notre note préliminaire (1) ont paru deux travaux concernant la même question : l'un de M. J. Cantacuzène (2), l'autre de M. G. Bernhardt (3). Les auteurs affirment avoir transmis la scarlatine aux singes inférieurs de l'espèce *Macacus rhesus*, *Macacus sinicus*, *Macacus cynomolgus*, *Cercopithecus cephus*, *Cercopithecus griseo-viridis*, *Cercopithecus fuliginosus*, en leur inoculant des ganglions, du sang, du liquide péricardique (Cantacuzène), ou du raclage de la langue des sujets scarlatineux (Bernhardt). Ils ont obtenu une maladie éruptive fébrile, apparaissant après une incubation des plus variables et se terminant par une desquamation de la peau. Cantacuzène ne mentionne pas de lésions de la gorge, tout en étant très affirmatif au sujet de la nature scarlatineuse de l'infection observée par lui. Quant à Bernhardt, il dit avoir obtenu des passages en série, nie le rôle pathogène spécifique du streptocoque, et pense que le virus scarlatineux doit être classé parmi les microbes filtrants.

Il nous est impossible, pour l'instant, de confirmer les faits avancés par les auteurs précités. En effet, nous avons nous-mêmes réalisé un grand nombre d'expériences sur les singes inférieurs et des tentatives de ce genre ont été faites par plusieurs expérimentateurs et sont restées inédites. Or, jamais

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, séance du 29 avril 1911.

(2) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, séance du 17 mars 1911.

(3) *Deutsche med. Woch.*, 1911, n° 17; cf. également n° 23.

nous n'avons obtenu un résultat vraisemblablement positif. Tout ce que nous avons enregistré, et encore assez rarement, ce sont des abcès à streptocoques, au point d'inoculation du matériel scarlatineux; jamais d'angine, jamais d'éruption, ni de desquamation typique. Quant à la fièvre, on sait combien il serait erroné de tabler sur les oscillations thermiques chez les simiens inférieurs. Parfois, sans aucune cause bien apparente, d'autres fois à la suite d'un léger trouble digestif, on enregistre des élévations de la température dépassant 40 degrés, quitte à constater une température normale le lendemain, voire même quelques heures après.

Ajoutons, pour être complets, que le nombre de nos singes inférieurs, inoculés avec des produits scarlatineux (exsudat de la gorge, sang, ganglions; injection sous-cutanée, péritonéale, intra-veineuse, badigeonnage de la gorge), a été de *trente-cinq*. Les espèces sur lesquelles nous avons opéré étaient : *Macacus rhesus*, *sinicus*, *cynomolgus*, *nomestrinus* et *Cynocephalus hamadryas*.

Vienne-Paris, 4 juillet 1911.

EXPLICATION DES PLANCHES IX, X ET XI

PL. IX. — Fig. 1. *Coupe de langue du Chimpanzé M* (page 755). *a*, papilles linguales avec infiltration leucocytaire. Hématoxyline-éosine. Gross. 1/60.

Fig. 2. *Coupe de rein du même Chimpanzé*. *a*, foyer d'infiltration interstitielle à leucocytes mononucléaires. Même coloration. Gross. 1/60.

Fig. 3. *Coupe d'amygdale du même Chimpanzé*. *a*, nécrose du tissu amygdalien et ulcération; *b*, hyperplasie des follicules. Même coloration. Grossissement 1/30.

PL. X. — Fig. 4. *Coupe de peau du Chimpanzé M* (page 755). *c*, foyer d'infiltration leucocytaire dans la couche cornée de l'épiderme; *a*, *b*, vaisseaux dilatés; *d*, infiltration péri-vasculaire à éléments mononucléaires. Hématoxyline-éosine. Gross. 1/60.

Fig. 5. *Coupe de peau de scarlatine humaine* (à comparer avec la figure 4). *a*, vaisseau dilaté; *b*, infiltration péri-vasculaire à éléments mononucléaires. Même coloration. Gross. 1/60.

PL. XI. — Fig. 6. *Coupe de peau de scarlatine humaine* (à comparer avec la figure 4). *c*, foyer d'infiltration leucocytaire dans la couche cornée de l'épiderme; *b*, vaisseau dilaté; *d*, infiltration péri-vasculaire à éléments mononucléaires. Hématoxyline-éosine. Gross. 1/60.

Fig. 7. *Coupe de langue de scarlatine humaine* (à comparer avec la figure 1). *a*, papilles linguales avec infiltration leucocytaire; *d*, vaisseau dilaté. Hématoxyline-éosine. Gross. 1/60.

Fig. 8. *Coupe d'amygdale du Chimpanzé C* (page 759). *f*, follicule; *n*, *g*, crypte amygdalienne obstruée par un bouchon fibrino-leucocytaire, en partie nécrosé. Même coloration. Gross. 1/30.

Fig. 9. *Coupe de la même amygdale*. *a*, *b*, leucocytes polynucléaires; *c*, amas de streptocoques; *s*, streptocoques. Carmin-Gram.

SUR L'ORIGINE DES ANTICORPS CHEZ LES COBAYES TRYPANOSOMIÉS

par le D^r STÉFAN MUTERMILCH

(Travail du laboratoire de M. Levaditi à l'Institut Pasteur.)

Nous connaissons déjà un certain nombre de travaux concernant l'origine des anticorps. Presque tous les auteurs attribuent le rôle formateur des anticorps aux organes hématopoïétiques et aux globules blancs.

Ainsi Pfeiffer et Marx (1), dans leur mémoire sur l'origine des anticorps cholériques, affirment avoir trouvé chez les lapins immunisés avec des vibrions cholériques tués, le cinquième jour après l'inoculation, la rate quatre fois plus active que le sérum; une seule fois ils ont constaté, vingt-quatre heures après l'injection sous-cutanée des vibrions, l'apparition d'anticorps vibriolytiques dans la rate, tandis que le sérum était encore totalement inactif. La moelle osseuse et les glandes lymphatiques se sont montrées parfois aussi actives que le sérum; au contraire, les leucocytes du sang et des exsudats ne semblaient pas pourvus de propriétés bactéricides.

Wassermann (2) attribue le rôle formateur des anticorps, dans les infections typhiques et pneumococciques expérimentales, surtout à la moelle osseuse.

De son côté, Deutsch (3) trouve dans la moitié de cas, chez des cobayes infectés avec le bacille typhique, la rate, et dans un quart à un cinquième de cas la moelle osseuse, plus actifs que le sérum.

Levaditi (4) a trouvé des anticorps spirillicides dans la

(1) R. PFEIFFER et MARX, *Archiv für Hygiene*, 1898, v. XXVII, p. 272.

(2) WASSERMANN, *Berl. klin. Woch.*, 1898, p. 209. — *Deutsche med. Woch.*, 1899, p. 141.

(3) DEUTSCH, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899, p. 689.

(4) C. LEVADITI, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1904, p. 311.

moelle osseuse, les ganglions, la rate, l'épiploon, en même temps que dans le sérum, mais en quantité plus considérable. Une seule fois la moelle osseuse d'un lapin contenait des anticorps avant les autres organes et le sérum.

Kraus et Schiffmann (1), Kraus et Levaditi (2) et Cantacuzène (3), ont étudié l'origine des précipitines et des agglutinines.

Kraus et Schiffmann supposent que la genèse des précipitines (pour le sérum de cheval) et des agglutinines (pour le bacille typhique) s'opère dans le système vasculaire, probablement dans l'endothélium; mais dans d'autres expériences sur l'origine des précipitines pour le sérum de cheval, Kraus et Levaditi ont trouvé que, de tous les organes, seul l'épiploon des animaux immunisés fournissait des extraits capables de précipiter d'une façon manifeste le sérum de cheval, cela à un moment où le sérum de l'animal préparé n'était nullement précipitant.

Cantacuzène, dans ses recherches sur l'origine des précipitines, a constaté que le deuxième et le troisième jours après l'injection du sérum de cheval aux lapins, l'extrait de rate donnait avec l'antigène un précipité abondant; cette action précipitante augmentait le jour suivant, puis diminuait pour devenir nulle vers le 7^e jour, moment où les précipitines apparaissaient dans le sang.

Les ganglions, la moelle osseuse et les leucocytes fournissaient des extraits précipitants avant l'apparition des précipitines dans le sérum, mais leur activité était plus faible que celle des extraits de rate.

Il en résulte que ces auteurs attribuent le rôle formateur d'anticorps surtout à la rate, et aussi à la moelle osseuse et aux leucocytes du sang et des exsudats. Quant à l'apparition de ces anticorps dans les organes avant le sérum, le fait n'a été constaté qu'exceptionnellement dans les expériences de Pfeiffer et Marx, Levaditi et Cantacuzène.

J'ai essayé de contrôler ces données en m'adressant au phé-

(1) KRAUS et SCHIFFMANN, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1904, 5 avril.

(2) KRAUS et LEVADITI, *Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 1905.

(3) CANTACUZÈNE, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1908, p. 54.

nomène de la trypanolyse des trypanosomes du Nagana provoqué par le sérum des cobayes infectés avec ces flagellés. Comme l'ont trouvé Massaglia (1), Rodet et Vallet (2) et d'autres, les cobayes infectés avec des trypanosomes subissent, au bout de 4 à 6 jours, une crise, à la suite de laquelle les trypanosomes disparaissent de la circulation générale; on constate en même temps l'apparition des anticorps trypanolytiques dans le sérum.

Je me suis efforcé de déceler ces anticorps dans les organes avant leur apparition dans le sang. Dans ce but j'infectais des séries de six à huit cobayes avec la même quantité de trypanosomes du Nagana et chaque jour je sacrifiais un ou plusieurs animaux par la saignée à blanc; les organes étaient broyés et on ajoutait 1 à 5 centimètres cubes d'eau salée. Les mélanges étaient conservés à 38 degrés pendant trois à quatre heures, puis centrifugés; il se formait ainsi à la surface une couche d'extrait d'organe qu'on éprouvait quant à la teneur en anticorps trypanolytiques. L'expérience était faite *in vitro*, en ajoutant une quantité suffisante d'alexine de cobaye et 1 à 2 gouttes de sang de souris trypanosomiée. Les extraits leucocytaires étaient préparés avec des exsudats péritonéaux provoqués chez le cobaye trypanosomié par l'injection préalable d'aleurone ou de bouillon; les leucocytes étaient lavés une fois, congelés et décongelés à plusieurs reprises, puis agités dans l'agitateur électrique.

Il résulte de mes recherches qu'aucun des organes normaux de cobaye n'agit sur les trypanosomes. Avec les cobayes infectés, l'expérience a été répétée huit fois avec des lots de 6 à 8 cobayes; parmi les animaux examinés comme il vient d'être indiqué, deux seulement ont fourni des organes agissant sur les trypanosomes, avant l'apparition des anticorps dans le sérum.

Voici ces expériences :

(1) MASSAGLIA, *Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 1907, vol. CXLV, p. 687.

(2) RODET et VALLET, *Arch. de méd. expériment.*, 1906, vol. XVIII.

Exp. I. — Les cobayes sont inoculés avec le Nagana le 6 décembre.

N ^{os}	7 décembre.	8 décembre.	9 décembre.	10 décembre.	11 décembre.	12 décembre.
33	0	Rares.	Très rares.	Rares.	Rares.	0
50	0	Rares.	Non rares.	Non rares.	»	»
75	Très rares.	Très rares.	Très rares.	Non rares.	Non rares.	»
72	0	Très rares.	Très rares.	Rares.	Rares.	Nombr.
58	0	0	Non rares.	0	0	0
73	0	Rares.	0	»	»	»

Le cobaye n° 73 est sacrifié le 9 décembre : pas de trypanolyse ni avec les extraits d'organes, ni avec le sérum.

Le cobaye n° 50 est sacrifié le 10 décembre : même résultat.

Le cobaye n° 75 est sacrifié le 11 décembre : même résultat.

Le cobaye n° 72 est sacrifié le 13 décembre : on prend 0,5 d'extrait d'organes + 0,6 d'alexine de cobaye + 1 goutte de sang de souris trypanosomiée :

TRYPANOLYSE		
	au bout de 15 minutes.	au bout de 40 minutes.
Foie	partielle.	presque complète.
Rein	0	0
Rate	presque complète.	complète.
Moelle osseuse.	presque complète.	presque complète.
Leucocytes.	0	0
Sérum	0	0

Exp. II. — Les cobayes sont infectés le 3 mars.

N ^{os}	4 mars.	5 mars.	7 mars.	8 mars.	9 mars.
71	Rares.	Non rares.	Nombreux.	Nombreux.	0
72	Rares.	Non rares.	Non rares.	Non rares.	0
73	Rares.	Non rares.	Nombreux.	Nombreux.	0
74	Rares.	Non rares.	Nombreux.	Nombreux.	»
75	Rares.	Non rares.	Non rares.	Non rares.	»
76	Rares.	Rares.	Nombreux.	Nombreux.	Nombreux.
77	Rares.	Rares.	Non rares.	»	»

TRYPANOLYSE AVEC LES ORGANES DU COBAYE 74		
	au bout de 20 minutes.	au bout de 45 minutes
Foie	0	0
Rein	0	0
Rate	presque complète.	complète.
Moelle osseuse	0	0
Leucocytes.	0	0
Sérum	0	0

Le cobaye n° 77 a été sacrifié le 7 mars; le cobaye n° 75, le 8 mars; pas d'anticorps dans le sérum et les organes.

Il en résulte que seule la rate du cobaye n° 74, sacrifié le 8 décembre, s'est montrée active, tandis que ni le sérum ni les autres organes ne renfermaient des quantités appréciables d'anticorps.

Ces expériences montrent que les anticorps trypanolytiques paraissent se former dans les organes, principalement dans la rate. Toutefois, il est difficile de les déceler à leur source, attendu qu'ils ne se produisent pas peu à peu, mais brusquement, au moment même de la crise; or, on ne peut jamais prévoir le moment où celle-ci commence. Au fur et à mesure qu'ils sont engendrés, il semble que les anticorps se déversent dans la circulation générale.

Une fois la crise passée, certains organes producteurs d'anticorps, en particulier la rate, devraient en contenir plus que le sérum. Malheureusement, dans les expériences de trypanolyse, toute comparaison quantitative du pouvoir trypanolytique des organes et du sérum est pratiquement impossible. Toutefois, j'ai eu l'impression que les tissus producteurs d'anticorps ne sont pas plus actifs que le sérum *après la crise*. En effet, les extraits d'organes *entiers* de cobayes (rate, foie, moelle osseuse, etc.), préparés avec un minimum d'eau salée (1-3 centimètres cubes), se sont toujours montrés très pauvres en anticorps.

Le cobaye n° 9 (poids 350 gr.) est saigné à blanc le 7^e jour après l'infection, deux jours après la crise.

Le foie entier (du poids de 8 gr.) est émulsionné dans 4 centimètres cubes d'eau salée.

La rate entière (du poids de 0 gr. 8) est émulsionnée dans 2 centimètres cubes d'eau salée.

La moelle osseuse de deux tibias est émulsionnée dans 1 centimètre cube d'eau salée.

Ces mélanges sont conservés pendant trois heures à 38 degrés, après quoi on les centrifuge. Le foie a fourni 2 centimètres cubes d'émulsion, la rate 0,5 centimètres cubes, la moelle osseuse 0,6 centimètres cubes.

Ces trois extraits et le sérum inactivé sont titrés quant à leur force trypanolytique en ajoutant à chaque tube 0,5 d'alexine + 1 goutte de sang de souris trypanosomiée.

Expérience de Trypanolyse.

	EXTRAIT	ALEXINE	EAU	TRYP.	FOIE	RATE	MOELLE OSSEUSE.	SÉRUM
	—	—	—	—				
1/80	0,1	0,5	0,1	1 goutte	0	0	0	part.
1/40	0,1	0,5	0,1	1 goutte	0	0	0	compl.
1/20	0,1	0,5	0,1	1 goutte	0	0	0	compl.
1/10	0,1	0,5	0,1	1 goutte	0	0	0	compl.
1/5	0,1	0,5	0,1	1 goutte	0	0	0	compl.
	0,1	0,5	0,1	1 goutte	pr. compl.	pr. compl.	compl.	compl.
	0,2	0,5	—	1 goutte	compl.	compl.	compl.	compl.

Cette expérience montre que le sérum est encore partiellement trypanolytique à la dilution de 1 : 80, tandis que les organes fournissent des extraits qui tuent les trypanosomes seulement à la dose de 0,1-0,2 centimètres cubes (non dilué). Ainsi les extraits d'organes paraissent être 80 fois moins actifs que le sérum, et pourtant nous n'avons ajouté que la moitié d'eau salée par rapport au poids du foie, et 2,5 fois d'eau par rapport au poids de la rate.

Ajoutons que les extraits de leucocytes provenant d'exsudats péritonéaux des cobayes examinés après la crise ne se sont jamais montrés doués de propriétés trypanolytiques.

Il en résulte que la présence des anticorps dans les organes, après la crise, doit être attribuée au sang contenu dans le parenchyme de ces organes.

Il serait intéressant de voir comment se comportent les extraits d'organes débarrassés de sang par un lavage abondant. Nous n'avons pas réussi à exécuter cette expérience avec la rate, organe qui nous intéressait le plus; mais le lavage du foie a montré que cet organe, après un lavage suffisant (100 à 200 centimètres cubes d'eau salée par la veine porte; les dernières eaux de lavage ne renfermaient plus d'anticorps), fournit des extraits complètement dépourvus de propriétés lytiques.

Le cobaye n° 36 est saigné à blanc le 5^e jour après la crise. On lave le foie en injectant de l'eau salée par la veine porte; on injecte en tout 160 centi-

mètres cubes; la dernière eau de lavage, dont on prend l'échantillon au niveau de la veine sus-hépatique, est incolore.

TRYPANOLYSE (0,5 D'EXTRAIT, 0,5 D'ALEXINE)		
	au bout de 15 minutes.	au bout de 45 minutes.
Rein.	complète.	complète.
Rate.	presque complète.	complète.
Foie lavé.	0	0
Dernière eau de lavage.	0	0
Sérum	complète.	complète.

En se basant sur ces expériences, on serait en droit de conclure que les éléments cellulaires ne renferment plus des anticorps chez les animaux sacrifiés après la crise.

Pourtant, ils doivent être capables d'en reproduire de nouvelles quantités *in vivo*, aussitôt qu'on prive l'organisme d'une certaine quantité des anticorps qui circulent dans son sang. L'expérience suivante semble le prouver.

Le cobaye n° 66 est saigné le 3^e jour après la crise par la carotide : on retire à peu près 10-15 centimètres cubes de sang et immédiatement après on lui injecte dans la veine jugulaire 20 centimètres cubes d'eau salée; on fait encore une prise de quelques centimètres cubes du sang dans la carotide; le lendemain on retire encore quelques centimètres cubes de sang d'une veine de la patte postérieure. On a ainsi trois échantillons de sérum qu'on titre quant à leur teneur en anticorps trypanolytiques.

Trypanolyse.

	SÉRUM	ALEXINE	EAU	TRYP.	1 ^{re} PRISE	2 ^e PRISE	3 ^e PRISE
4/100	0,1	0,2	0,7	1 goutte.	trace.	zéro.	trace.
	0,5	0,2	0,3	1 goutte.	pr. compl.	partiel.	pr. compl.
4/10	0,1	0,2	0,7	1 goutte.	compl.	compl.	compl.
	0,3	0,2	0,5	1 goutte.	compl.	compl.	compl.
	0,5	0,2	0,3	1 goutte.	compl.	compl.	compl.
	0,1	0,2	0,7	1 goutte.	compl.	compl.	compl.

Dans une dernière série d'expériences j'ai essayé de vérifier les constatations de Wassermann, qui admet la possibilité d'une formation d'anticorps à l'endroit même où l'on introduit l'antigène (formation locale d'anticorps). Dans ce but j'ai

injecté une série de lapins dans la cavité pleurale droite avec des émulsions de trypanosomes morts (1).

J'ai sacrifié chaque jour un lapin, après lui avoir injecté le matin dans les deux cavités pleurales 5 centimètres cubes de bouillon stérile, et j'ai comparé la force trypanolytique des exsudats de deux plèvres avec celle du sérum du même animal. Or, jamais je n'ai constaté l'apparition des anticorps trypanolytiques dans la plèvre droite (injectée avec des trypanosomes) à un moment où ces anticorps étaient absents dans le sérum. En outre, après l'apparition des anticorps dans le sérum, l'exsudat de la plèvre droite n'a pas été plus actif que le sérum et l'exsudat de la plèvre gauche.

De même, en injectant une série de cobayes dans le péritoine avec des trypanosomes morts, j'ai constaté que l'exsudat péritonéal n'était pas trypanolytique avant le sérum.

Les lapins nos 95, 96, 97, 98, 99 et 100 reçoivent chacun 1 centimètre cube d'émulsion de trypanosomes morts dans la cavité pleurale droite, le 7 mai.

Le lapin 95 est sacrifié le 10 mai Pas d'anticorps.

—	96	—	le 11 mai	—
—	97	—	le 12 mai	—
—	98	—	le 13 mai	—
—	99	—	le 14 mai.	

Trypanolyse.

				SÉRUM LAPIN 99	PLÈVRE droite.	PLÈVRE gauche.
ALEXINE		EAU	TRYP.			
—		—	—			
1/10	0,1	0,3	0,6	1 goutte.	zéro.	0
	0,2	0,3	0,5	1 goutte.	0	0
	0,5	0,3	0,2	1 goutte.	0	0
	0,1	0,3	0,6	1 goutte.	0	0
	0,3	0,3	0,4	1 goutte.	compl.	trace.

Le lapin n° 100 est sacrifié le 15 mai.

(1) Ces émulsions étaient préparées de la façon suivante : on infectait trois gros rats blancs avec des trypanosomes, on les saignait trois jours après l'infection et on défibrinait le sang, qu'on soumettait à la centrifugation dans des tubes étroits, après dilution préalable du sang avec de l'eau salée dans la proportion de 1 : 1; il se forme ainsi une couche blanche de trypanosomes, qu'on aspire dans une pipette et qu'on chauffe pendant quelques minutes à 50 degrés.

Trypanolyse.

					SÉRUM LAPIN 100	PLÈVRE droite.	PLÈVRE gauche.
		ALEXINE	EAU	TRYP.			
		—	—	—			
1/10	0,1	0,3	0,6	1 goutte.	0	0	0
	0,2	0,3	0,5	1 goutte.	trace.	0	0
	0,5	0,3	0,2	1 goutte.	pr. compl.	3	0
	0,1	0,3	0,6	1 goutte.	compl.	part.	part.
	0,3	0,3	0,4	1 goutte.	compl.	compl.	compl.

CONCLUSIONS.

1° Chez les cobayes infectés avec le trypanosome du Nagana, les anticorps trypanolytiques semblent se former dans les organes hématopoïétiques, en particulier dans la rate et la moelle osseuse; le foie paraît également participer à cette élaboration des trypanolysines. Dès qu'ils sont fabriqués par les tissus, les principes trypanocides sont rapidement, peut-être même brusquement, déversés dans le sang circulant;

2° Après la crise, les organes contiennent autant d'anticorps qu'il y en a dans le sang qu'ils renferment;

3° Les éléments cellulaires peuvent produire de nouvelles quantités d'anticorps trypanocides dès que, par des saignées successives, on prive l'organisme d'une partie des substances trypanolytiques circulantes;

4° Il n'y a pas de formation d'anticorps à l'endroit où on introduit l'antigène (plèvre, péritoine) chez les lapins et les cobayes inoculés avec des trypanosomes morts.

ERRATUM

Mémoire de M. MANOUÉLIAN, septembre 1911. Page 670, 2^e colonne du tableau, 1^{re} expérience, au-dessus de 3 gouttes, lire : Bouillon-pept.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.